



**Universidad  
Zaragoza**

Trabajo Fin de Máster  
Máster en Ingeniería Biomédica

---

# **Estudio del efecto de la degradación enzimática de la collagenasa en el aneurisma aórtico a través del ensayo de inflado.**

Autor  
Alejandro Aparici Gil

Directora  
Dra. Estefanía Peña Baquedano

Escuela de Ingeniería y Arquitectura  
2019/2020



## DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

(Este documento debe entregarse en la Secretaría de la EINA, dentro del plazo de depósito del TFG/TFM para su evaluación).

D./D<sup>a</sup>. Alejandro Aparici Gil

,en

aplicación de lo dispuesto en el art. 14 (Derechos de autor) del Acuerdo de 11 de septiembre de 2014, del Consejo de Gobierno, por el que se aprueba el Reglamento de los TFG y TFM de la Universidad de Zaragoza,  
Declaro que el presente Trabajo de Fin de (Grado/Máster)

Máster

(Título del Trabajo)

Estudio del efecto de la degradación enzimática de la collagenasa en el aneurisma aórtico a través del ensayo de inflado.

es de mi autoría y es original, no habiéndose utilizado fuente sin ser citada debidamente.

Zaragoza, a 3 de junio de 2020

Fdo: Aparici Gil, Alejandro

# **PRESENTACIÓN**

## **TRABAJO FIN DE MÁSTER**

El trabajo de fin de máster desarrollado a lo largo de la siguiente memoria tiene como objetivo el estudio de la mecánica de la pared durante el proceso de degradación que se da en la arteria aorta y que resulta en un aneurisma aórtico. Para ello, se han llevado a cabo distintos ensayos de inflado con ciclos de presión que han sido combinados con el efecto de la degradación enzimática que provoca la colagenasa.

Todo ello permite tener conocimiento de como la pared arterial modifica sus propiedades pasando de ser una pared íntegra a una pared que apenas es capaz de mantener su integridad estructural y termina por romper.

La presente memoria se divide en dos bloques principales: el primero de ellos corresponde al capítulo segundo, donde se trata el ensayo experimental describiendo la metodología utilizada junto a los resultados obtenidos; el segundo bloque es el tercer capítulo, en él se trata el ajuste numérico de los resultados experimentales detallando el modelo constitutivo, la solución analítica del ensayo de inflado y los resultados que aporta.

El proyecto finaliza con las conclusiones y líneas futuras que surgen de este proyecto.



# Índice general

|   |            |
|---|------------|
| <b>Índice de figuras</b>                    | <b>V</b>   |
| <b>Índice de tablas</b>                     | <b>VII</b> |
| <b>1 Introducción</b>                       | <b>1</b>   |
| 1.1 Vasos sanguíneos . . . . .              | 2          |
| <b>2 Ensayo experimental</b>                | <b>7</b>   |
| 2.1 Preparación de la muestra . . . . .     | 7          |
| 2.2 Colagenasa . . . . .                    | 9          |
| 2.3 Puesto de ensayo . . . . .              | 9          |
| 2.3.1 Control de la temperatura . . . . .   | 11         |
| 2.3.2 Control de la presión . . . . .       | 11         |
| 2.3.3 Captura de imagen . . . . .           | 11         |
| 2.3.4 Circuitos . . . . .                   | 11         |
| 2.4 Ensayo de inflado y protocolo . . . . . | 12         |
| 2.4.1 Protocolo . . . . .                   | 13         |
| 2.5 Resultados . . . . .                    | 15         |
| 2.5.1 Ciclos de presión . . . . .           | 16         |

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| 2.5.2    | Curvas de presión frente $\lambda_\theta$ | 17        |
| <b>3</b> | <b>Ajuste numérico</b>                    | <b>21</b> |
| 3.1      | Modelo constitutivo                       | 21        |
| 3.1.1    | Solución analítica para inflado           | 22        |
| 3.2      | Ajuste del modelo de comportamiento       | 23        |
| <b>4</b> | <b>Conclusiones</b>                       | <b>31</b> |
| 4.1      | Líneas futuras                            | 33        |
|          | <b>Anexo</b>                              | <b>34</b> |
|          | <b>Referencias</b>                        | <b>45</b> |

## Índice de figuras

|      |   |    |
|------|---|----|
| 1.1  | Representación de los distintos aneurismas aórticos según su localización. . . . .            | 2  |
| 1.2  | Diferentes tamaños de los vasos sanguíneos. . . . .   | 3  |
| 1.3  | Arteria elástica frente a muscular. . . . .   | 4  |
| 1.4  | Histología del aneurisma de aorta torácica. . . . .   | 4  |
| 2.1  | Ejemplar de aorta separada del corazón y dividida en los diferentes tramos. . . . .           | 8  |
| 2.2  | Detalle de la fijación de la muestra de arteria y la longitud entre mordazas ( $l_0$ ). . . . | 8  |
| 2.3  | Esquema del set de ensayo de inflado diseñado para el estudio. . . . .                        | 10 |
| 2.4  | Valores de $\lambda$ y de presión en la caracterización de $\lambda_{iv}$ . . . . .           | 12 |
| 2.5  | Caracterización de los mecanismos de degradación. . . . .                                     | 13 |
| 2.6  | Gráfica típica de carga-presión para diferentes valores de $\lambda$ . . . . .                | 14 |
| 2.7  | Ensayo no válido por la proximidad entre el agujero y la brida. . . . .                       | 15 |
| 2.8  | Ciclos de presión del ensayo. . . . .   | 16 |
| 2.9  | Curvas de carga frente presión. . . . .   | 17 |
| 2.10 | Curvas de presión frente a $\lambda_\theta$ en DTA-P (11619-T3). . . . .                      | 18 |
| 2.11 | Curvas de presión frente a $\lambda_\theta$ en DTA-D (11119-T4). . . . .                      | 18 |
| 2.12 | Zonas de ruptura para las muestras DTA-P (izquierda) y DTA-D (derecha). . . . .               | 19 |
| 2.13 | Pérdida de rigidez resultante de la degradación. . . . .                                      | 19 |

|     |   |    |
|-----|---|----|
| 3.1 | Ajuste de las curvas. . . . .   | 24 |
| 3.2 | Evolución de los parámetros en el tiempo. . . . .   | 25 |
| 3.3 | Evolución media de los parámetros en el tiempo. Muestras proximales. . . . .  | 26 |
| 3.4 | Evolución media de los parámetros en el tiempo. Muestras distales. . . . .  | 27 |
| 3.5 | Representación del ángulo $\alpha$ de las fibras de colágeno de la pared arterial. [Gasser<br><i>et al.</i> , 2006] . . . . . | 28 |
| 4.1 | Ciclos de presión del ensayo. . . . .   | 36 |
| 4.2 | Curvas de carga frente presión. . . . .   | 37 |
| 4.3 | Curvas de presión frente $\lambda_\theta$ zona superior. . . . .  | 38 |
| 4.4 | Curvas de presión frente $\lambda_\theta$ zona media. . . . .   | 39 |
| 4.5 | Curvas de presión frente $\lambda_\theta$ zona inferior. . . . .  | 40 |
| 4.6 | Curvas de presión frente $\lambda_\theta$ comparadas. . . . .   | 41 |
| 4.7 | Pérdida de rigidez de la pared arterial. . . . .  | 42 |



## Índice de tablas

|     |  |    |
|-----|--|----|
| 2.1 | Medidas de los tramos de aorta ensayados. . . . .                              | 9  |
| 2.2 | Clasificación de las muestras. . . . .   | 15 |
| 3.1 | Parámetros muestra 11119_T3. . . . .   | 24 |
| 3.2 | Parámetros muestra 11119_T4. . . . .   | 24 |
| 3.3 | Ecuación y coeficiente de determinación para los distintos parámetros. . . . . | 28 |
| 4.1 | Parámetros muestra 11119_T2. . . . .   | 43 |
| 4.2 | Parámetros muestra 11119_T3. . . . .   | 43 |
| 4.3 | Parámetros muestra 11619_T3. . . . .   | 43 |
| 4.4 | Parámetros muestra 10219_T4. . . . .   | 44 |
| 4.5 | Parámetros muestra 11119_T4. . . . .   | 44 |
| 4.6 | Parámetros muestra 11619_T4. . . . .   | 44 |



# Introducción



Los aneurismas aórticos (Fig. 1.1) hacen referencia a una dilatación patológica en un segmento de la aorta que tiene tendencia a expandirse y romperse [Mathur *et al.*, 2016]. La ruptura de aneurismas de aorta abdominal se estima que causa entre el 4-5 % de las muertes repentinas en los Estados Unidos. Son eventos fatales que están caracterizados por cambios estructurales en la pared arterial [Sherifova & Holzapfel, 2019].

El aumento y los cambios estructurales en la pared arterial, resultantes de un complejo remodelado vascular inadecuado, pueden resultar en el colapso de la pared arterial y en la ruptura de la misma cuando ésta ya no puede soportar la presión sanguínea interna [Fraga-Silva & Trachet, 2015]. El principal peligro de la ruptura es que en la mayor parte de los casos no existen síntomas previos, por lo que cuando esta ocurre el riesgo de muerte es muy elevado por la hemorragia interna que se produce.

Entre los factores de riesgo que más afectan al aneurisma se encuentra el tabaquismo, la hipertensión, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, edad avanzada o el sexo masculino. Además, algunos aneurismas aórticos se relacionan con síndromes como el de Marfan o el de Ehlers-Danlos, caracterizados por defectos en los genes específicos del tejido conectivo. Otras causas conocidas son

la válvula aórtica bicúspide o la inflamación local del vaso acompañada de un desequilibrio entre la síntesis y degradación de matriz extracelular [Humphrey, 2002; Lilly, 2016].

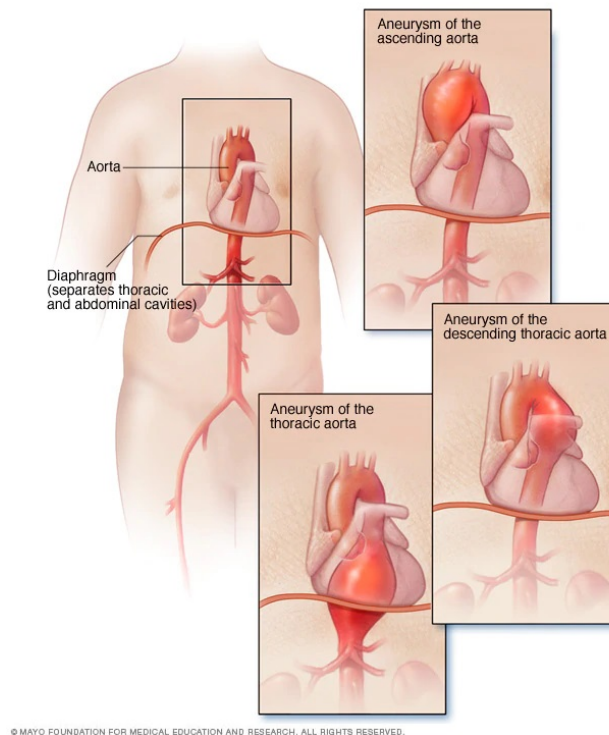


Figura 1.1: Representación de los distintos aneurismas aórticos según su localización.

Actualmente, se considera que un aneurisma es vulnerable y debe intervenir quirúrgicamente cuando el diámetro del lumen supera los 5,0 cm en mujeres y los 5,5 en hombres o cuando el incremento en el diámetro supera los 0,5-1 cm en el periodo de un año [Fraga-Silva & Trachet, 2015; Humphrey & Holzapfel, 2012; Sherifova & Holzapfel, 2019]. Sin embargo, en el ámbito médico y biológico muy pocos criterios son válidos para todos los casos, es por ello necesario dirigirse hacia modelos específicos para cada paciente con la ayuda de la simulación computacional. En Gasser *et al.* [2010] se ve cómo es posible la utilización de herramientas computacionales en la evaluación del riesgo de ruptura del aneurisma para cada paciente de forma específica. Para que estos nuevos métodos lleguen a ser una realidad es necesario profundizar en el conocimiento de los mecanismos que conducen al aneurisma y cómo se ven afectadas las propiedades mecánicas de los vasos implicados.

## 1.1. Vasos sanguíneos

El sistema cardiovascular se compone por la sangre, los vasos sanguíneos y el corazón y su función es transportar por el organismo las diferentes sustancias requeridas para su correcto funcionamiento. Dentro de los vasos sanguíneos se encuentran las arterias, venas, arteriolas, vénulas y capilares. Las diferencias entre estos vasos residen en el tamaño, la estructura interna (Fig. 1.2) y la dirección del flujo sanguíneo.

En cuanto al tamaño, las arterias y venas son las de mayor calibre y van sufriendo ramificaciones que originan vasos de menor tamaño y que se conocen como arteriolas y vénulas. Estos vasos continúan ramificándose hasta unirse y formar el capilar, que es el vaso de menor calibre y donde se

produce el intercambio de sustancias entre el flujo sanguíneo y los distintos tejidos del organismo. Arterias y arteriolas se encargan de llevar el flujo desde el corazón hasta el resto de órganos y las venas y vénulas se encargan del transporte desde los órganos hasta el corazón.

Los vasos están compuestos por una matriz extracelular, tejido muscular, fibras de colágeno y elastina y proteoglicanos, lo que lleva a un comportamiento anisótropo fibrado y heterogéneo. La estructura es más compleja ya que por ejemplo, en el caso de las arterias, no todas van a tener la misma relación de constituyentes si no que dependerá de su proximidad al corazón. Esto es así debido a los requerimientos mecánicos a los que el vaso es sometido para que tenga lugar una correcta circulación.

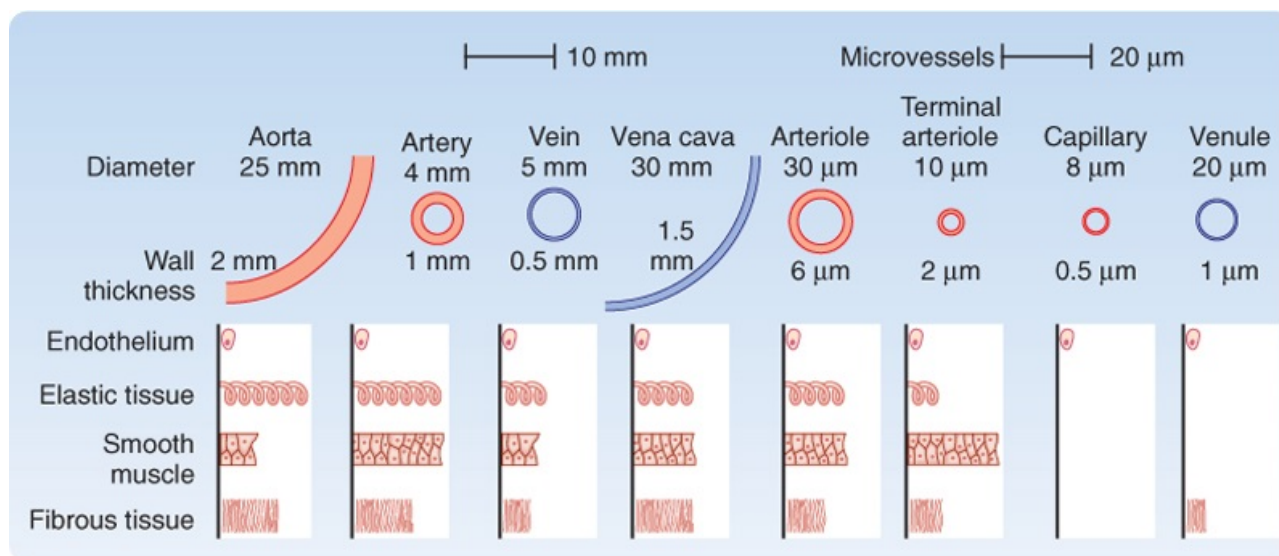


Figura 1.2: Diámetro interno, espesor de pared y distribución de los constituyentes de la pared de los vasos sanguíneos que componen el sistema circulatorio [Bruce M. Koeppen, 2017].

Las arterias son los vasos con mayor porcentaje de elastina porque su función principal es transformar la contracción original que es pulsátil en estacionaria al llegar a los capilares, por ello cuanto más proximal es la arteria mayor será su porcentaje de elastina, mientras que cuanto más distal es mayor porcentaje de tejido muscular tendrá para poder ser capaz de mantener la presión sanguínea. Las venas y vénulas devuelven la sangre al corazón y tienen una menor cantidad de elastina y tejido muscular porque no necesitan transformar ningún tipo de pulso ni mantener presiones elevadas, del retorno venoso se encargan los músculos al contraerse y las válvulas existentes en el interior de las venas que aseguran la circulación en un único sentido.

Estos constituyentes dan lugar a tres capas diferentes denominadas capa íntima, media y adventicia. La capa íntima es una capa endotelial que previene la agregación de plaquetas y segrega sustancias que controlan el diámetro de vaso sanguíneo; la media está formada por músculo liso y tejido conjuntivo e inervada por el sistema simpático (vasoconstricción), esta capa desaparece en las arterias más pequeñas; la adventicia es la más externa y se forma por tejido conectivo desorganizado (colágeno y elastina).

La siguiente figura (Fig. 1.3) refleja la diferencia en el porcentaje de constituyentes y estructura de las capas según la arteria es elástica (proximal) o muscular (distal).



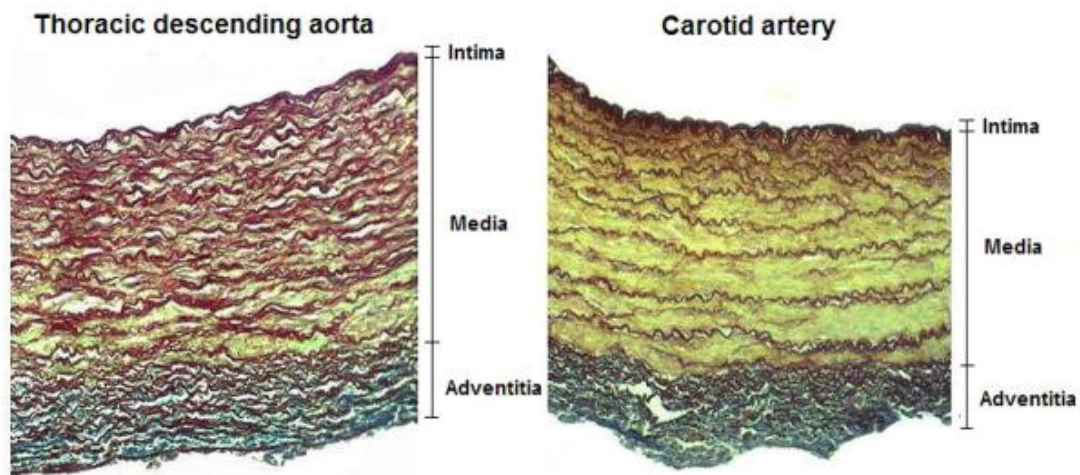


Figura 1.3: Arteria elástica (izquierda) frente a muscular (derecha). La tinción permite diferenciar los constituyentes: músculo liso (amarillo), elastina (rojo oscuro), y colágeno (azul) [Valdez-Jasso *et al.*, 2011].

Como se expone al comienzo de la introducción, el aneurisma es una patología relacionada con la pared arterial y desórdenes que afectan a su estructura (Fig. 1.4).

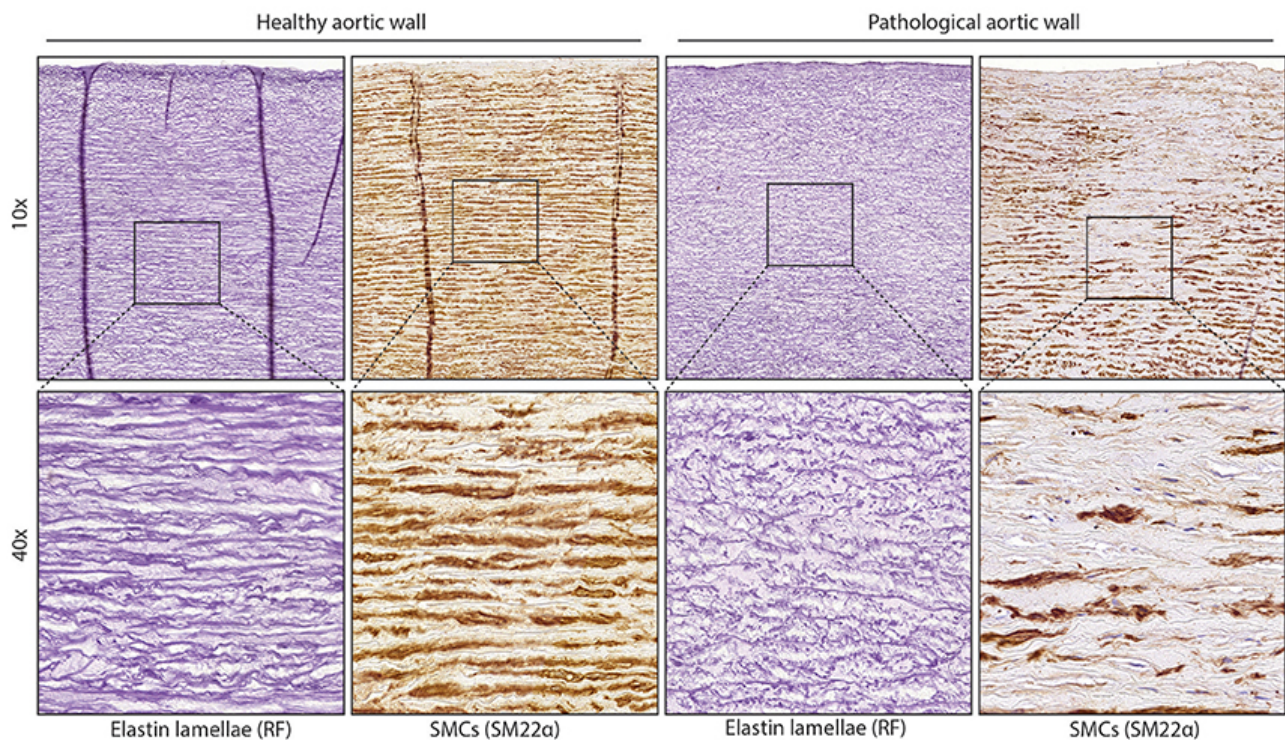


Figura 1.4: En la izquierda tejido aórtico normal, en la derecha se muestra la pared arterial con aneurisma [van de Pol *et al.*, 2017].

Puede verse como el aneurisma produce una pérdida de elastina (color morado) y de células musculares lisas (marrón). Al mismo tiempo se produce colágeno sin organización dando como resultado una pared arterial con la relación de constituyentes alterada. Esta anomalía es tal que si en una aorta abdominal los porcentajes normales de elastina, células musculares y colágeno son respectivamente

22,7, 22,6 y 54,8 en un aneurisma abdominal se puede encontrar un 2,4, 2,2 y 96,5 [Humphrey, 2002].

La pérdida de elastina y músculo liso es reemplazada por colágeno durante el ensanchamiento del aneurisma. La adventicia parece experimentar un aumento del espesor inducido por efecto de la tensión que genera la deposición de colágeno nuevo para reforzar la pared. Mientras que la aparición de colágeno es una respuesta protectora frente a la pérdida de elastina y músculo liso, desequilibrios localizados entre la síntesis y degradación pueden ser responsables en gran medida de rupturas eventuales [Humphrey & Holzapfel, 2012].





# Ensayo experimental

2

Los ensayos de inflado fueron llevados a cabo sobre seis muestras de arteria aorta procedentes de tres especímenes porcinos por ser la especie animal estándar para investigaciones cardiovasculares debido a sus próximos valores hemodinámicos y de tamaño en comparación con los humanos [Lelovas *et al.*, 2014]. Dichas muestras se introdujeron en la cámara de ensayos donde se sometieron a diferentes ciclos de presión estando bajo el efecto de la colagenasa.

La finalidad del ensayo es inducir una degradación progresiva como efecto combinado de los cambios de presión durante el ciclo y la degradación enzimática del colágeno presente en las capas que conforman el vaso.

## 2.1. Preparación de la muestra

Las muestras son arterias aortas de origen porcino, procedentes de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza.

Los corazones y arterias se encontraban almacenados en un ultracongelador a 80° bajo cero. Para

proceder a ensayar, en primer lugar se descongelaba el corazón para separar de él la aorta. Esta se dividía y numeraba en cinco tramos desde T1 hasta T5 (Fig. 2.1) siendo más distal cuanto mayor es la numeración. Los tramos de arteria que no se ensayaban eran de nuevo congelados pero esta vez a 24-25° bajo cero.

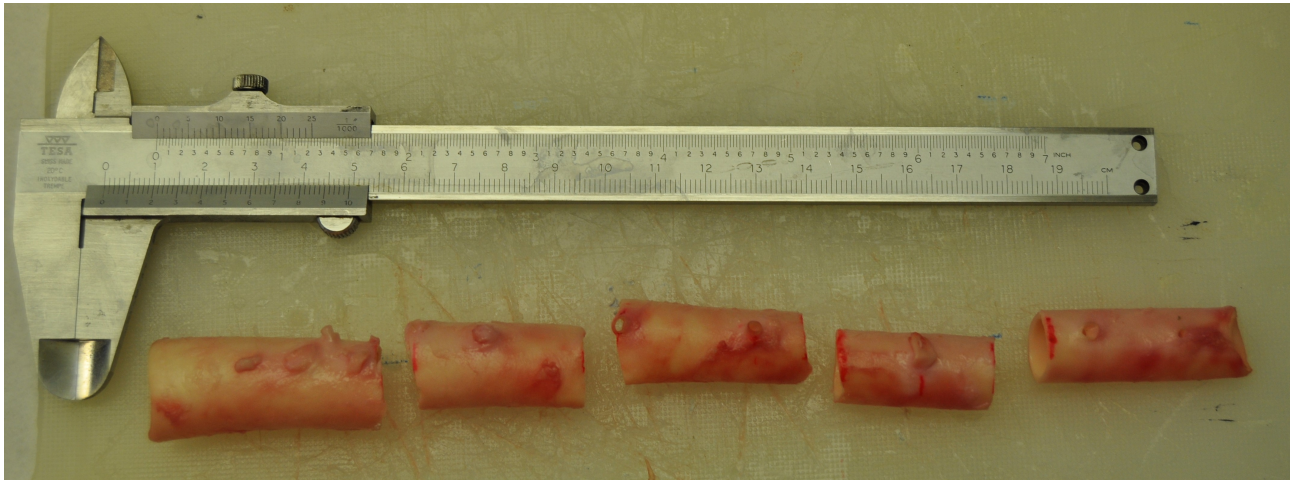


Figura 2.1: Ejemplar de aorta separada del corazón y dividida en los diferentes tramos. T1, T2, T3, T4 y T5 de izquierda a derecha respectivamente.

Se ensayaron un total de 12 muestras, de las cuales fueron válidas 6 de ellas. Entre los motivos que condujeron a descartar los ensayos se encuentran la aparición de fugas, agujeros naturales en el vaso o roturas en zonas muy próximas a las bridas de sujeción.

Los tramos que se consiguieron ensayar sin que un problema obligase a invalidar el ensayo fueron los tramos 2, 3 y 4 de la muestra 11119; 3 y 4 de la 11619; y 4 de la 10219.

Seleccionada la muestra, ésta se colocaba en la cámara de ensayos quedando fija por cada extremo a un tubo de tal forma que el circuito interior quedaba cerrado. La distancia que resultaba entre las bridas que fijaban la muestra,  $l_0$ , resulta crucial para el resultado del ensayo, ya que de ella dependerá la deformación a aplicar para obtener la *lambda in vivo*,  $\lambda_{iv}$ .  $l_0$  se procuró que fuese de 20 mm aproximadamente (Fig. 2.2). En la Tabla 2.1 quedan recogidas las diferentes medidas de cada uno de los tramos.

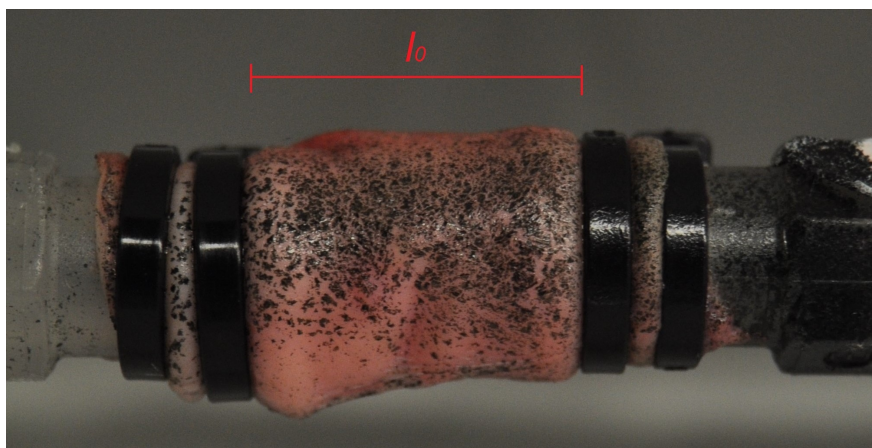


Figura 2.2: Detalle de la fijación de la muestra de arteria y la longitud entre mordazas ( $l_0$ ).

| Muestra  | longitud ( $l$ ) | diámetro ( $\phi$ ) | espesor ( $e$ ) | long. mordazas ( $l_0$ ) |
|----------|------------------|---------------------|-----------------|--------------------------|
| 11119_T2 | 51               | 17,3                | 1,40            | 20,0                     |
| 11119_T3 | 33               | 15,9                | 1,33            | 18,7                     |
| 11619_T3 | 35               | 14,6                | 1,25            | 23,4                     |
| 10219_T4 | 31               | 13,7                | 1,37            | 21,0                     |
| 11119_T4 | 32               | 13,7                | 1,25            | 19,0                     |
| 11619_T4 | 28               | 14,2                | 1,03            | 17,6                     |

unidades en milímetros

Tabla 2.1: Medidas de los tramos de aorta ensayados.

## 2.2. Colagenasa

Se trata de una enzima capaz de producir una degradación del colágeno por la ruptura de sus enlaces peptídicos.

Para este estudio la colagenasa fue suministrada por la empresa Sigma-Aldrich®. Es un tipo de colagenasa procedente de la *Clostridium histolyticum* y que se compone por una mezcla de enzimas capaces de hidrolizar el colágeno. Se diferencian seis tipos diferentes de colagenasa ( $\alpha, \beta, \gamma, \delta, \epsilon$  y  $\zeta$ ) donde los tres primeros tienen una actividad más alta y los tres últimos más moderada. La colagenasa suministrada en forma de polvo (1 gr.) contenía 305 unidades de digestión de colágeno (CDU) por miligramo. La dosis a emplear disuelta en PBS se obtuvo de los estudios realizados previamente en arteria de cerdo por Ghasemi *et al.* [2018] y Gundiah *et al.* [2013], donde se emplea una concentración de 500 CDU/ml.

El total de PBS por ensayo es de 400 ml, por tanto:

$$400 [ml] \cdot 500 [CDU/ml] = 200000 [CDU]$$

$$\frac{200000 [CDU] \cdot 1000 [mg]}{305000 [CDU]} = 656 [mg]$$

Por tanto, se requirieron una cantidad de 656 mg de colagenasa en polvo diluida en 400 ml de PBS por cada ensayo de inflado.

Adicionalmente a los datos bibliográficos se llevaron a cabo dos pruebas previas consistentes en ensayos de tracción uniaxial con el fin de comprobar que la concentración de colagenasa era capaz de producir degradación en la arteria a un ritmo adecuado.

La colagenasa permanecía almacenada refrigerada a una temperatura de 4°C hasta el momento en que se mezclaba con PBS. Para el ensayo la temperatura de la mezcla debe estar entre 37 y 40°C para evitar la pérdida de actividad enzimática.

## 2.3. Puesto de ensayo

El diseño del puesto para ensayar requiere de un elevado número de sensores y máquinas ya que se necesita un control muy preciso de las condiciones de temperatura, las diferencias de presión a

las que la arteria se ve sometida, los alargamientos que tienen lugar y además se tiene que grabar la prueba para poder determinar posteriormente cómo es la variación del diámetro durante los ciclos de presión. A continuación, en la figura adjunta (Fig. 2.3), se puede observar un esquema general de los distintos sensores y dispositivos empleados para el ensayo.

Dispositivos:

- 1.- Piscina para la mezcla de colagenasa y PBS
- 2.- Conjunto calentador
  - a) Controlador de temperatura
  - b) Piscina con calentadores
- 3.- Bose BioDynamic® 5270
- 4.- Instron® 5848 Microtester
- 5.- Cámara con colagenasa para la muestra

Sondas:

- I.- Sonda de presión superior
- II.- Sonda de presión inferior
- III.- Sonda de temperatura para el controlador
- IV.- Sonda de temperatura de la muestra

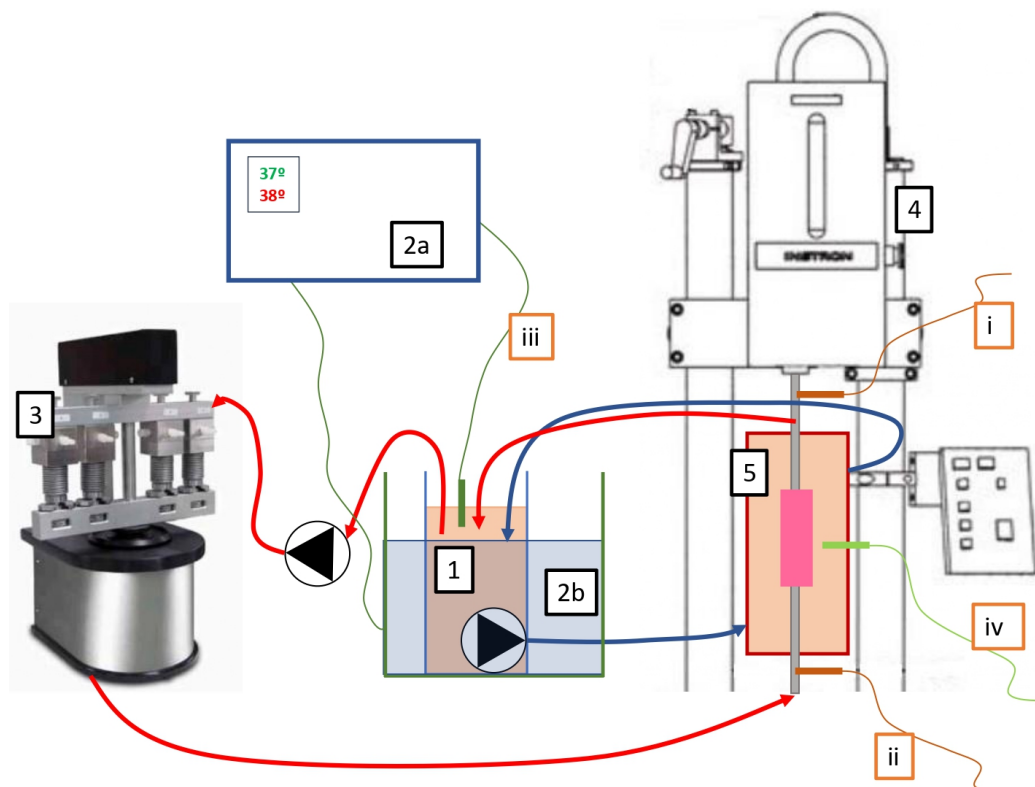


Figura 2.3: Esquema del set de ensayo de inflado diseñado para el estudio.

### 2.3.1. Control de la temperatura

La temperatura es uno de los factores más importantes que deben controlarse debido a que se necesita una temperatura mínima para la activación de la colagenasa pero sin que se exceda de un umbral para evitar que ésta pierda su eficacia. Este rango de temperaturas debe encontrarse entre los 37 y los 40°C. El funcionamiento es el siguiente: el controlador dispone de una sonda de temperatura (sonda iii en el esquema) la cual se introduce en la piscina con el PBS y la colagenasa (1) para informar de la temperatura a la que se encuentra. Del mismo modo dispone de unas resistencias que se conectan a la piscina (2b) que contiene en su interior agua y el recipiente de colagenasa. De esta forma el controlador calienta el agua de la piscina hasta una temperatura determinada tal que hace que la colagenasa se encuentre a la temperatura elegida.

Además, se añadió una sonda de temperatura más (sonda iv) que permite conocer la temperatura a la que se encuentra la colagenasa que está en contacto con la arteria en el interior de la cámara. Es aquí donde se requieren los 37°C mínimos para que se de la degradación.

### 2.3.2. Control de la presión

La presión resulta clave para la interpretación de los resultados, ya que es una de las variables que mayor información aporta junto con la variación del diámetro. Es por ello que debe estar bien determinada. En el montaje se dispusieron dos sondas (i y ii) que permitieron conocer de forma precisa la diferencia de presiones en el interior de la arteria. Esto permitía saber si había fugas por un orificio de la aorta.

El biorreactor Bose BioDynamic<sup>®</sup> 5270 es capaz de generar pulsos de presión necesarios para el ensayo.

### 2.3.3. Captura de imagen

Por medio del sistema de cámaras LaVision<sup>®</sup> se capturan imágenes de la aorta durante los ciclos a los que se somete la arteria para analizar posteriormente cómo es la variación del diámetro experimentado durante los cambios de presión.

El sistema consiste en dos cámaras cuya frecuencia de captura de imágenes es de 14 Hz (una imagen cada 0,07 segundos) mientras tienen lugar los ciclos y de 0,0167 Hz (una imagen cada minuto) durante la hora de degradación estática.

### 2.3.4. Circuitos

En el montaje se diferencian dos circuitos: el exterior y el interior. El primero de ellos (flechas de color azul) tiene la finalidad de llenar el interior de la cámara para sumergir la muestra en colagenasa. El segundo (flechas de color rojo), que pasa en primer lugar por la máquina Bose, se encarga de hacer circular la colagenasa en el interior de la arteria y producir los ciclos.

## 2.4. Ensayo de inflado y protocolo

Consta de dos partes diferenciadas: una primera en la que se busca la  $\lambda_{iv}$ , característica de cada muestra en PBS sin colagenasa, y otra en la que se aplican los ciclos de presión en intervalos de una hora mientras se produce la degradación. Ambas partes son grabadas mediante técnicas de captura de imagen para su posterior análisis.

$\lambda_{iv}$  es la extensión para la cual la fuerza axial es relativamente insensible a los cambios de presión en el interior del lumen y que experimentalmente se ha determinado cercana al alargamiento *in vivo* del vaso. Una implicación de este fenómeno es que la arteria no trabaja de manera axial durante los ciclos de inflado, lo cual es ventajoso energéticamente [Humphrey, 2002]. Para determinarla (Fig. 2.4) se realizaron 10 ciclos de presión entre 0 y 180 mmHg con valores de  $\lambda$  desde 1,3 a 1,7 con un incremento de 0,1 a la muestra sumergida en PBS.

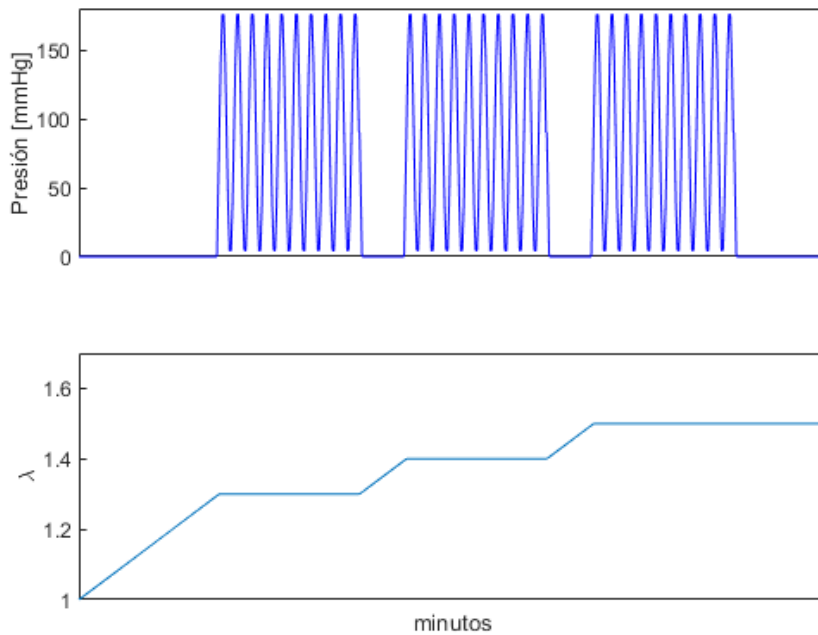


Figura 2.4: Valores de  $\lambda$  y de presión en la caracterización de  $\lambda_{iv}$ .

Una vez determinada  $\lambda_{iv}$ , ésta permanece ya fija y se introduce la colagenasa al PBS. Tras degradar una hora se inducen 20 ciclos de presión entre 0 y 180 mmHg, se deja degradar otra hora y se aplican los 20 ciclos de nuevo (Fig. 2.5). Este proceso se repite hasta que la arteria rompe por el efecto combinado de la degradación y los ciclos de presión.

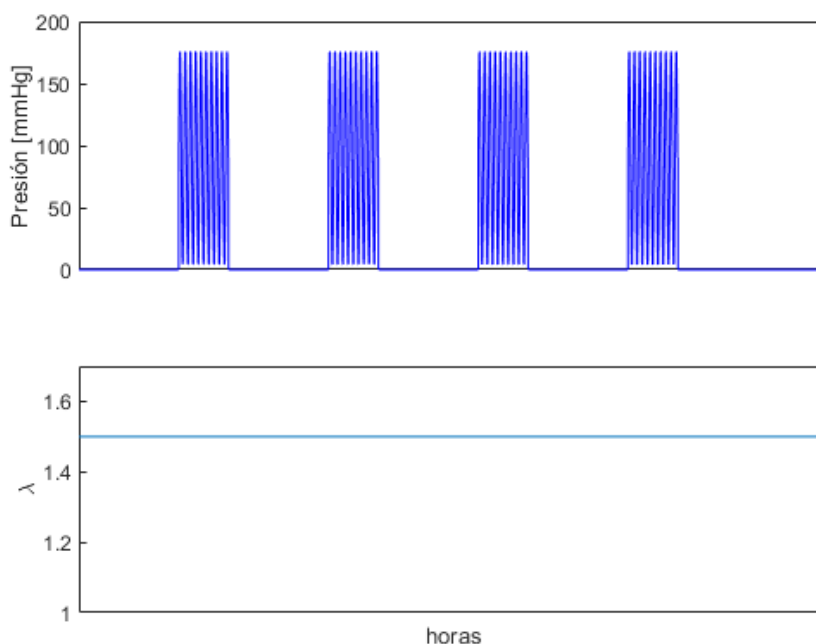


Figura 2.5: Caracterización de los mecanismos de degradación.

### 2.4.1. Protocolo

Para asegurar la equivalencia de todos los ensayos y obtener unos resultados comparables se estableció un protocolo a seguir.

Primeramente, se descongelaba la muestra al tiempo que se preparaba el set de ensayo y se calibraban los diferentes dispositivos. Una vez descongelada la muestra se realizaban fotografías y se tomaban las medidas de espesor, diámetro y longitud. Antes de fijarla a la cámara de ensayo se realizaban marcas sobre ella utilizando pintura en spray negra (Fig. 2.2).

Preparada ya la muestra se procede a determinar la  $\lambda_{iv}$ .

- 1.- Colocación de la muestra: fijación con bridas procurando una distancia entre ellas ( $l_0$ ) próxima a 20 mm.
- 2.- Ciclos de presión: 10 ciclos de presión entre 0 y 180 mmHg.
- 3.- Parámetros de captura: frecuencia de grabación de datos para las máquinas de ensayo y cámaras de 10 Hz.
- 4.- Forma de actuar:
  - Muestra en PBS sin colagenasa
  - Introducir la deformación correspondiente (desde 30 % hasta el 70 %) con una velocidad de desplazamiento de 5 mm/min
  - Poner a cero la sonda de presión superior (i, Fig. 2.3)
  - Inducir ciclos de presión

- Tras 5 minutos de relajación a la deformación fijada llevar la muestra al siguiente nivel de deformación y repetir el proceso

La siguiente figura muestra el aspecto de la gráfica de carga frente presión que se ha de obtener cuando el nivel de deformación se corresponde con  $\lambda_{iv}$ . En este caso dicho valor se correspondería con un alargamiento del 70 % ( $\lambda_{70}$ ). Puede verse que la principal característica se encuentra en que la curva es prácticamente horizontal.

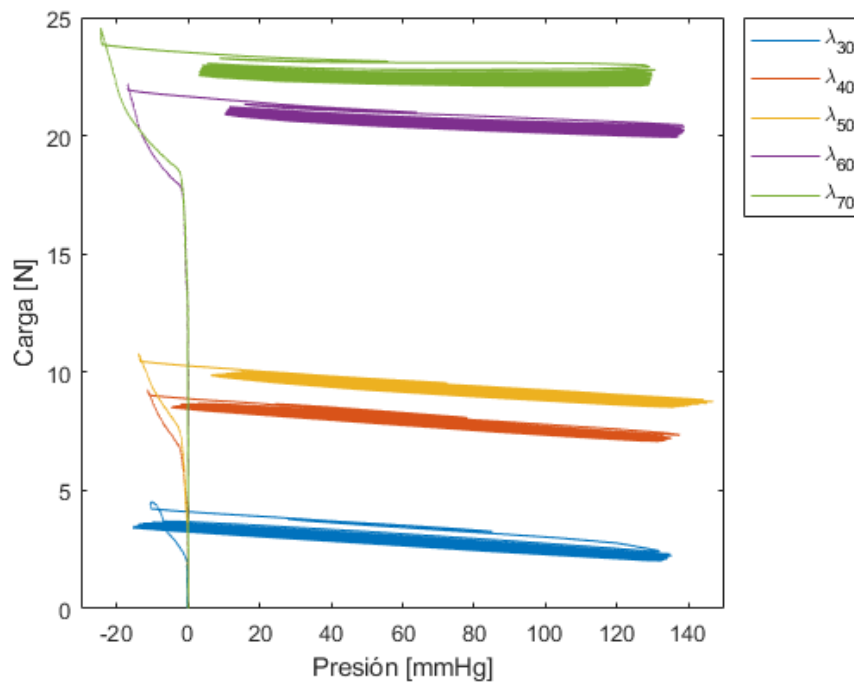


Figura 2.6: Gráfica típica de carga-presión para diferentes valores de  $\lambda$ .

En este punto se mezclan los 656 gramos de colagenasa determinados en el apartado 2.2 con 50 ml de PBS previamente extraídos del circuito del ensayo y se reintroducen para que comience la degradación.

A continuación, comienza la segunda fase del ensayo en la que se combina la degradación con los ciclos de presión para producir el aneurisma.

- 1.- Comprobar que la temperatura en la cámara de la muestra está entre los 37 y 40 grados.
- 2.- Dejar actuar durante una hora la colagenasa.
- 3.- Inducir 20 ciclos de presión entre 0 y 180 mmHg.
- 4.- Repetir proceso las horas necesarias hasta que rompa la arteria durante los ciclos de presión.

Los parámetros de captura se modifican: frecuencia de grabación de datos para las máquinas de ensayo y cámaras de 14 Hz durante los ciclos. Frecuencia de captura de imágenes durante la degradación de 0,0167 Hz (una imagen por minuto).



## 2.5. Resultados

El siguiente apartado recoge las gráficas y distintos resultados que se han obtenido de los ensayos realizados sobre las muestras. Se llevaron a cabo un total de 12 ensayos, de los cuales 6 tuvieron que descartarse debido a diferentes problemas, por ejemplo, muestras con agujeros que impedían el llevar a cabo los ciclos de presión o muestras en las cuales el agujero producido por la degradación tenía lugar en una zona muy próxima a la brida de sujeción como es el caso de la Fig. 2.2.

Para una mejor interpretación de los resultados se clasifican en dos grupos las muestras de las arterias. Atendiendo a las medidas de diámetro y espesor se dividen en aorta torácica descendente proximal o distal, denominadas como DTA-P o DTA-D respectivamente (Tabla 3.3).

Debido a la gran cantidad de gráficas obtenidas se mostrará únicamente la correspondiente a una muestra de cada grupo. En el Anexo I podrán consultarse las gráficas del total de muestras ensayadas.

| Muestra  | diámetro ( $\phi$ ) | espesor ( $e$ ) | Clasificación |
|----------|---------------------|-----------------|---------------|
| 11119_T2 | 17,3                | 1,40            | DTA-P         |
| 11119_T3 | 15,9                | 1,33            | DTA-P         |
| 11619_T3 | 14,6                | 1,25            | DTA-P         |
| 10219_T4 | 13,7                | 1,37            | DTA-D         |
| 11119_T4 | 13,7                | 1,25            | DTA-D         |
| 11619_T4 | 14,2                | 1,03            | DTA-D         |

unidades en milímetros

Tabla 2.2: Clasificación de las muestras.

Esta clasificación se basa en las medidas obtenidas de diámetro y espesor y posición en la aorta. Como se comenta en la introducción, las arterias van variando su morfología en función de su proximidad al corazón con el fin de adaptarse a distintos requerimientos mecánicos. A medida que la arteria aumenta su distancia al corazón disminuye su diámetro y espesor, pero incrementando su porcentaje de células musculares para mantener la presión.

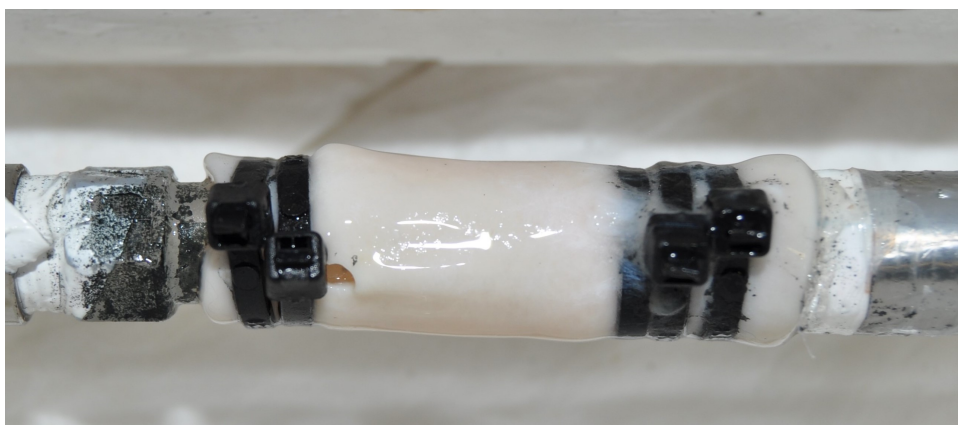


Figura 2.7: Ensayo no válido por la proximidad entre el agujero y la brida.

Las variables más relevantes y que mayor información aportan son la presión ( $p$ ), la carga ( $N$ ) y la extensión circunferencial ( $\lambda_\theta$ ). Presión y carga son obtenidas por los diferentes dispositivos que

realizan el ensayo y que graban dicha información, la extensión circunferencial se calcula a partir de las imágenes grabadas midiendo los diferentes diámetros que tienen lugar por medio del software ImageJ®.

Definiéndose  $\lambda_\theta$  como:

$$\lambda_\theta = 1 + \frac{\phi - \phi_0}{\phi_0} \quad (2.1)$$

donde  $\phi_0$  es el diámetro inicial.

### 2.5.1. Ciclos de presión

Las siguientes gráficas (Fig. 2.8) muestran la influencia de la degradación en la relación entre la carga, que representa la fuerza en Newtons que es necesaria ejercer para mantener la muestra de arteria fija en su posición de  $\lambda_{iv}$ , y la presión que se da en el interior del lumen como resultado de los ciclos que se inducen.

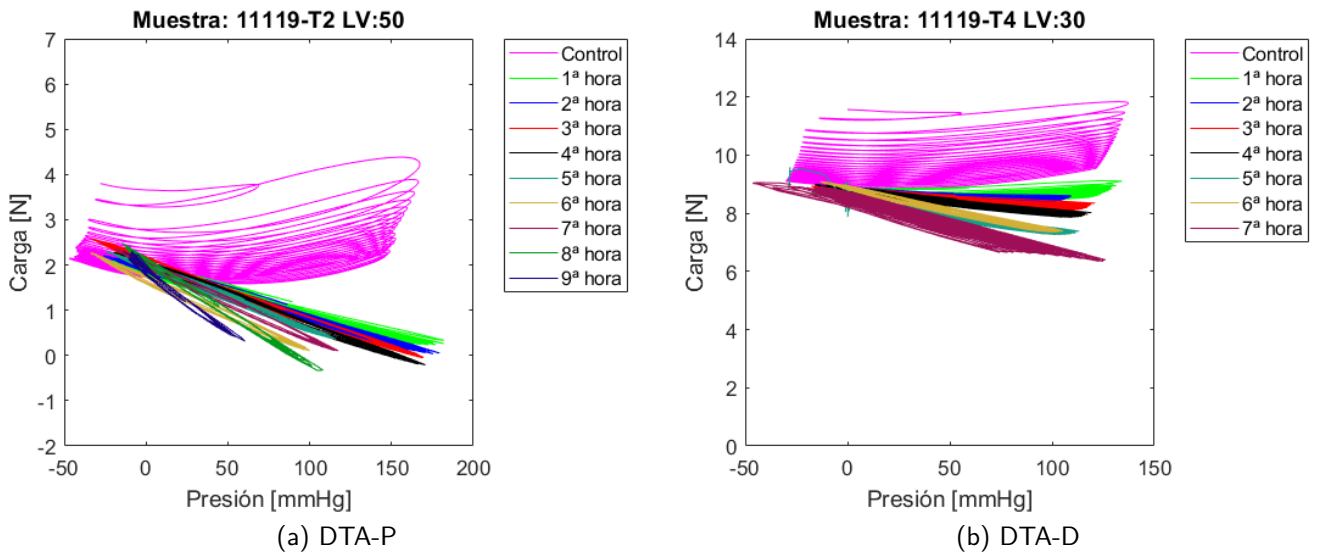


Figura 2.8: Ciclos de presión del ensayo.

En la situación control se observa una ligera pendiente positiva, esto indica que la arteria al inflarse y aumentar su diámetro tiende a acortar su dimensión  $z$ , por lo que la máquina de ensayo debe ejercer más fuerza para mantener la posición de  $\lambda_{iv}$  fijada. A medida que el tiempo de degradación al que se somete la arteria aumenta, se observa que la curva representativa del ciclo va aumentando negativamente su pendiente. Esto es indicativo de que la integridad estructural del vaso se va perdiendo poco a poco debido a que la colagenasa degrada las fibras de colágeno dispuestas en dirección circunferencial y longitudinal.

Otro efecto que se aprecia es que el aumento del tiempo de degradación reduce el ancho del ciclo. Se observa que la curva pasa a tener un camino de carga y otro de descarga más semejante al comportamiento de la elastina, que se caracteriza por una mayor linealidad y menor viscoelasticidad. Se produce una pérdida de viscolasticidad por la proteólisis del colágeno.

Comparando entre las muestras queda reflejado que la más distal requiere de mayor carga para mantener fija su posición de  $\lambda_{iv}$ . Esta diferencia tiene su origen en la distribución de los constitu-

yentes que forman la pared, teniendo la arteria distal una menor cantidad de elastina y mayor de células musculares.

Las curvas mostradas en la Fig. 2.9 representan las cargas y presiones alcanzadas para el último ciclo de presión. En este caso se indica la diferencia de carga que se produce durante el proceso de inflado hasta alcanzar diámetros y presiones máximos.

En el conjunto de muestras se observa una misma tendencia, a mayor degradación se obtiene mayor variación en la carga lo que refleja una menor integridad de la pared. Además, esta degradación de la pared reduce la presión máxima que se da en el interior del lumen al no ser capaz de mantener de igual forma la presión.

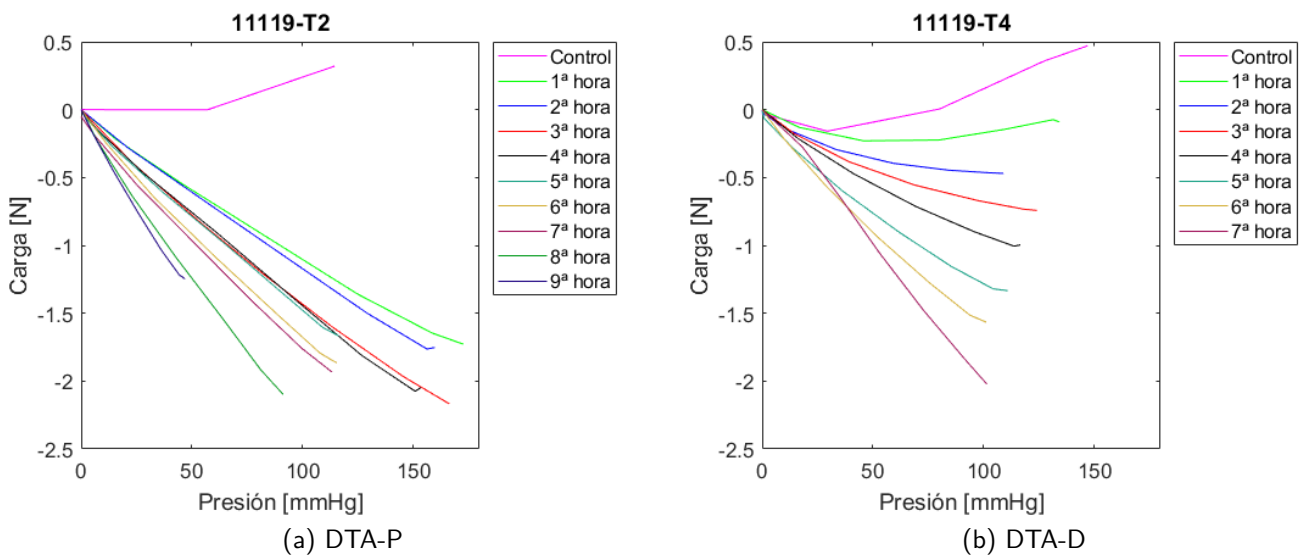


Figura 2.9: Curvas de carga frente presión.

### 2.5.2. Curvas de presión frente $\lambda_\theta$

Las curvas de  $p - \lambda_\theta$  (Fig. 2.10 y Fig. 2.11) muestran el cambio en el diámetro que la presión produce. Para ello se tomaron tres medidas en tres posiciones: a un 25 %, 50 % y 75 % de la longitud que tenía la muestra en la configuración del ensayo ( $l_0 \cdot \lambda_{iv}$ ), dichas medidas se denominaron como superior, media e inferior respectivamente.

Estas curvas permiten ver que la degradación no ocurre de igual forma en toda la muestra. En el caso de la arteria proximal (Fig. 2.10) para la tercera hora se observa que dicha curva es diferente a las anteriores y a la que se obtiene para el mismo tiempo de degradación en la zona media. Este hecho refleja un mayor deterioro en la zona superior, que es la zona por la que rompió (Fig. 2.12 izda). La similitud entre las curvas para la 4ª y 5ª hora indican que la muestra se encontraba ya rota.

En la muestra más distal (Fig. 2.11) se observan en la zona media dos grupos de curvas, el primero de ellos comprendido por las curvas de 1ª a 4ª hora y otro segundo por las curvas de la 5ª a 7ª hora. Este comportamiento no se da en la zona inferior mostrando una diferente degradación entre zonas. Esta diferencia sugiere que la zona media se vio más afectada por la degradación. De nuevo esta zona que parece más afectada es por la que rompió (Fig. 2.12 dcha).

Como norma común a todas las muestras se aprecia que para un mismo nivel de presión a mayor degradación mayor es la extensión  $\lambda_\theta$  alcanzada como consecuencia de la pérdida de rigidez de la pared. Dicho comportamiento se describe también en Trabelsi *et al.* [2020].

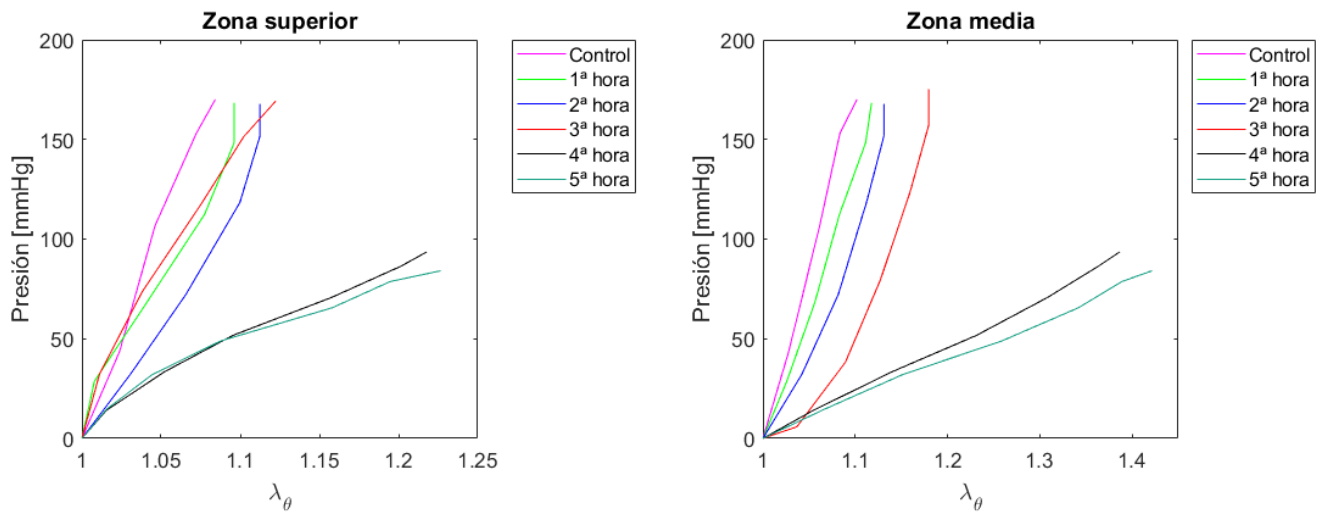


Figura 2.10: Curvas de presión frente a  $\lambda_\theta$  en DTA-P (11619-T3).

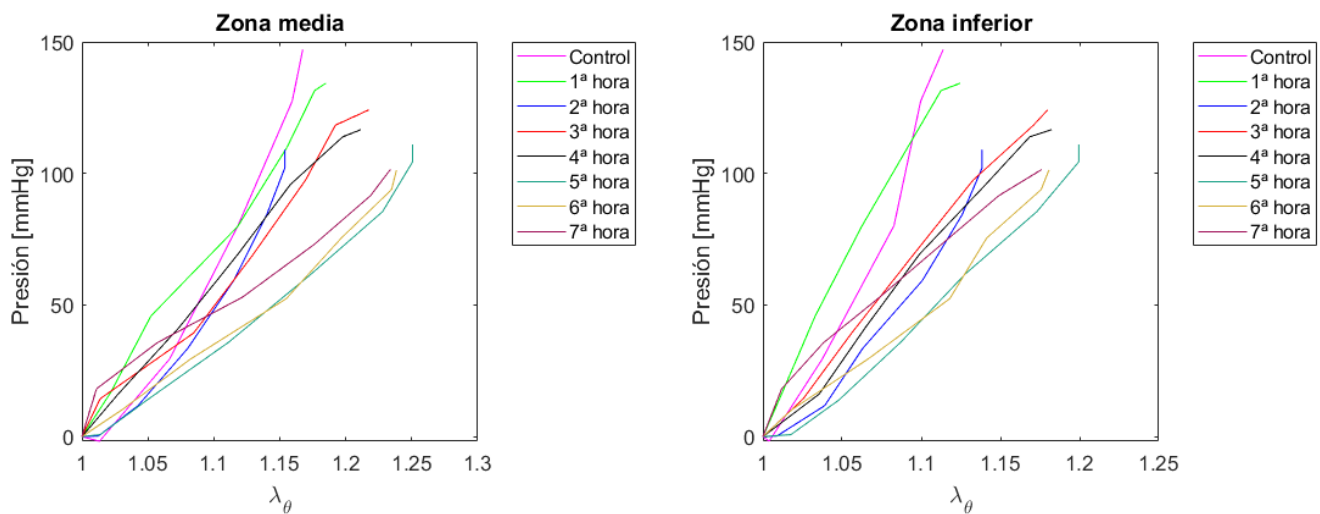


Figura 2.11: Curvas de presión frente a  $\lambda_\theta$  en DTA-D (11119-T4).

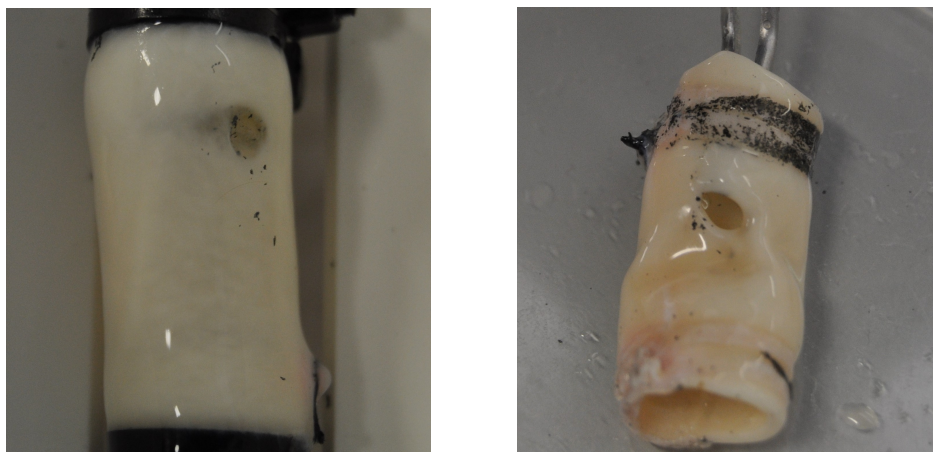


Figura 2.12: Zonas de ruptura para las muestras DTA-P (izquierda) y DTA-D (derecha).

La pérdida de rigidez que experimenta la pared arterial puede verse más claramente en las gráficas de la Fig. 2.13, donde se muestra el incremento de presión que ha sido necesario para alcanzar el valor máximo de  $\lambda_\theta$  en las diferentes zonas para cada hora de degradación.

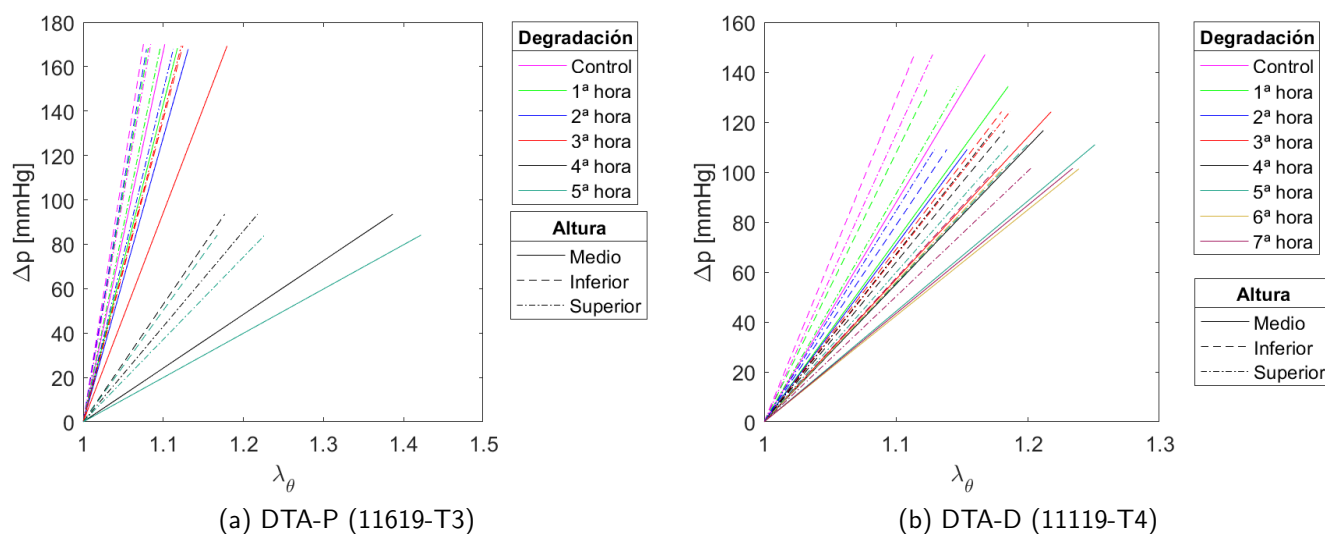


Figura 2.13: Pérdida de rigidez resultante de la degradación.

Como puede apreciarse en las figuras anteriores la variación en la proporción de los constituyentes que conforman la pared arterial provoca que el comportamiento ante la degradación sea desigual. Que la arteria proximal soporte mayores presiones es resultado de la función que el tramo más proximal ejerce dentro del propio sistema circulatorio.



## Ajuste numérico

Este capítulo detalla el proceso que se lleva a cabo para el tratamiento de los resultados haciendo posible llegar a unas conclusiones que relacionan los cambios estructurales que ocurren en la pared arterial como resultado de la exposición a la colagenasa con una serie de parámetros que permiten cuantificar el comportamiento mecánico del vaso hasta la rotura.

### 3.1. Modelo constitutivo

Mediante el empleo de modelos de comportamiento es posible trasladar los resultados obtenidos de presión y fuerza a una serie de parámetros constitutivos que evolucionan a lo largo del ensayo. Esto permite establecer relaciones entre el cambio en las propiedades de la pared y la degradación que experimenta.

Para el modelado del comportamiento mecánico de la pared arterial se ha utilizado el propuesto en Gasser *et al.* [2006]. Este modelo se caracteriza por tener en cuenta que el material está formado por dos familias de fibras de colágeno que tienen una determinada orientación respecto a la dirección longitudinal y una cierta dispersión respecto a dicha orientación. La función densidad de deformación

del modelo es la siguiente:

$$\Psi = \frac{C_1}{2}[I_1 - 3] + \frac{k_1}{2k_2} \sum_{i=4,6} \exp \left( k_2 [\kappa(I_1 - 3) + (1 - 3\kappa)(I_i - 1)]^2 \right) - 1 \quad (3.1)$$

$C_1$  representa la pendiente de la curva en un rango de deformaciones muy pequeñas, haciendo referencia a la contribución isotrópica (modelo Neo-Hookeano) asociado a la elastina. Los parámetros  $k_1$  y  $k_2$  están asociados al comportamiento del colágeno, concretamente el primero de ellos es indicativo del ondulamiento y el segundo de la rigidez del colágeno. El parámetro  $\kappa$  tiene significado físico, y está relacionado con la dispersión de las fibras respecto de una dirección concreta. Puede tomar valores entre 0 y  $\frac{1}{3}$ , si es 0 es que las fibras tienen una única dirección, mientras que el valor de  $\frac{1}{3}$  indica que pueden tomar cualquier orientación siendo su comportamiento isotrópico. Finalmente, los invariantes  $I_4$  e  $I_6$ , definidos como  $(\mathbf{m}_0 \cdot \overline{\mathbf{C}} \cdot \mathbf{m}_0)$  y  $(\mathbf{n}_0 \cdot \overline{\mathbf{C}} \cdot \mathbf{n}_0)$ , hacen referencia a una parte anisótropa relacionada con las dos familias de fibras de colágeno ( $\mathbf{m}_0$  y  $\mathbf{n}_0$ ) y su orientación ( $\alpha$ ).

En base a esta formulación es posible determinar las tensiones del siguiente modo:

Definiendo los invariantes como

$$I_4 = \lambda_\theta^2 \cos(\alpha)^2 + \lambda_z^2 \sin(\alpha)^2 \quad I_6 = \lambda_\theta^2 \cos(\alpha)^2 + \lambda_z^2 \sin(\alpha)^2 \quad (3.2)$$

es posible calcular las tensiones  $\theta$ ,  $r$ , y  $z$  de la forma mostrada a continuación

$$\sigma_\theta = \frac{\partial \Psi}{\partial \lambda_\theta} \lambda_\theta \quad \sigma_r = \frac{\partial \Psi}{\partial \lambda_r} \lambda_r \quad \sigma_z = \frac{\partial \Psi}{\partial \lambda_z} \lambda_z \quad (3.3)$$

### 3.1.1. Solución analítica para inflado

Según Holzapfel *et al.* [2000] y asumiendo que el vaso es incompresible, pueden determinarse los valores de  $\lambda_\theta$  y  $\lambda_z$  como

$$\lambda_\theta = \frac{r}{\sqrt{k\lambda_z(r^2 - r_i^2) + R_i^2}} \quad \lambda_r = \frac{\sqrt{(r^2 - r_i^2)\lambda_z k + R_i^2}}{r\lambda_z k} \quad (3.4)$$

donde  $r_i$  es el radio interior en la configuración deformada,  $R_i$  es el radio interior en la configuración indeformada,  $k$  es un parámetro definido por  $k = 2\pi/(2\pi - \beta)$  siendo  $\beta$  el ángulo de apertura y  $\lambda_z$  que es constante y su valor es el determinado por  $\lambda_{iv}$ .

En ausencia de fuerzas la ecuación de equilibrio queda definida como

$$\nabla \cdot \boldsymbol{\sigma} = 0 \quad (3.5)$$



En coordenadas polares y debido a la simetría del modelo la única componente no trivial es

$$\frac{d\sigma_{rr}}{dr} + \frac{(\sigma_{rr} - \sigma_{\theta\theta})}{r} = 0 \quad (3.6)$$

La obtención de las diferentes tensiones posibilita el cálculo de forma numérica de la integral de la fuerza longitudinal experimentada mediante el método de integración numérica de Gauss.

Aplicando las condiciones de contorno se obtiene que:

$$p_i = \int_{r_i}^{r_o} (\bar{\sigma}_{\theta\theta} - \bar{\sigma}_{rr}) \frac{dr}{r} \quad (3.7)$$

$$F = \pi \int_{r_i}^{r_o} (2\bar{\sigma}_{zz} - \bar{\sigma}_{\theta\theta} - \bar{\sigma}_{rr}) r dr \quad (3.8)$$

Una vez definida la formulación que permite determinar numéricamente las presiones y fuerzas se emplea un proceso iterativo que pretende minimizar una función objetivo que compara los valores obtenidos experimentalmente y numéricamente. Al encontrar el mínimo de esta función se determinan los parámetros que definen las propiedades de la pared arterial en el momento del ensayo. Dicha función objetivo es la siguiente:

$$\text{mín} \left\{ (P_{anl} - P_{exp})^2 + \gamma (F_{anl} - F_{exp})^2 \right\} \quad (3.9)$$

donde  $\gamma$  es un parámetro definido por  $\gamma = P_{exp}/F_{exp}$  cuya función es igualar los órdenes de magnitud para que ambos términos se minimicen de forma similar.

Para ello se utilizó el software Matlab y la función *fmincon*.

## 3.2. Ajuste del modelo de comportamiento

A partir de los datos obtenidos del ensayo y mediante el uso un modelo de comportamiento es posible obtener una serie de parámetros que reflejan la evolución de las propiedades de la pared arterial a lo largo del ensayo.

A modo de ejemplo se representa en las figuras siguientes (Fig. 3.1) el ajuste realizado en una muestra proximal y otra distal para un tiempo de degradación de tres horas. En la parte superior aparecen los valores de los parámetros que el modelo ha calculado para ajustarse al comportamiento descrito por las curvas experimentales. El modelo es capaz de ajustar tanto la curva  $p - \lambda_\theta$  como la curva  $p - F_z$ .

Además, con los parámetros de las muestras para cada hora en colagenasa se definen las gráficas de la evolución temporal (Fig. 3.2) de dicho parámetros. Esto permite conocer y observar determinadas tendencias.

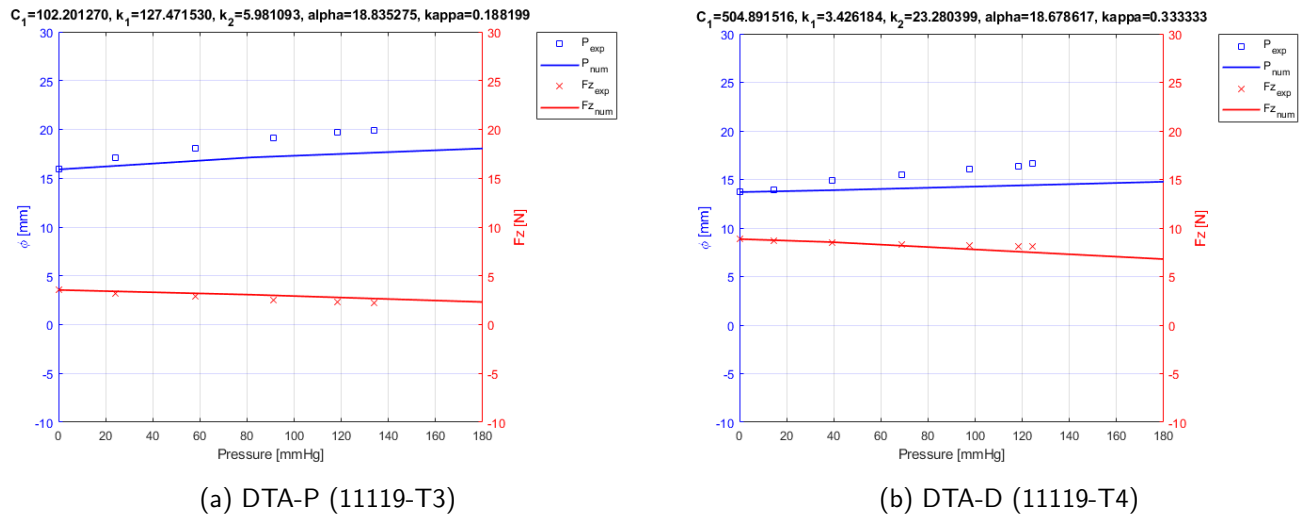


Figura 3.1: Ajuste de las curvas.

Para las muestras anteriores se obtienen los siguientes parámetros (Tabla 3.1 y Tabla 3.2) para el total de horas que duró el ensayo.

| <b>11119_T3</b> | $C_1$      | $k_1$      | $k_2$     | $\alpha$  | $\kappa$ |
|-----------------|------------|------------|-----------|-----------|----------|
| 0               | 192.159974 | 121.209713 | 14.804446 | 12.928253 | 0.207878 |
| 1               | 118.024201 | 151.657923 | 7.645252  | 17.692363 | 0.203326 |
| 2               | 141.573826 | 60.631698  | 6.594458  | 18.656398 | 0.170178 |
| 3               | 102.20127  | 127.47153  | 5.981093  | 18.835275 | 0.188199 |
| 4               | 77.33993   | 91.212917  | 3.787012  | 20.737887 | 0.225641 |
| 5               | 108.760256 | 69.848567  | 7.08807   | 15.288517 | 0.194873 |
| 6               | 105.014005 | 40.622004  | 3.618744  | 25.648745 | 0.168397 |

Tabla 3.1: Parámetros muestra 11119\_T3.

| <b>11119_T4</b> | $C_1$      | $k_1$    | $k_2$     | $\alpha$  | $\kappa$ |
|-----------------|------------|----------|-----------|-----------|----------|
| 0               | 561.15418  | 0.624434 | 40.043771 | 14.105692 | 0.333333 |
| 1               | 512.013207 | 0.448808 | 32.101033 | 14.336907 | 0.333333 |
| 2               | 488.568138 | 1.74743  | 17.357308 | 14.835149 | 0.333333 |
| 3               | 504.891516 | 3.426184 | 23.280399 | 18.678617 | 0.333333 |
| 4               | 487.320483 | 1.124611 | 24.938344 | 14.461124 | 0.333333 |
| 5               | 491.625516 | 2.081626 | 15.103593 | 20.45558  | 0.333333 |
| 6               | 473.003519 | 3.078699 | 19.589453 | 14.730198 | 0.333332 |
| 7               | 422.99833  | 3.896123 | 19.044905 | 10.633723 | 0.333333 |

Tabla 3.2: Parámetros muestra 11119\_T4.

Las gráficas que aparecen a continuación representan la evolución temporal de los parámetros de cada muestra para las distintas horas en las que tuvo lugar la degradación.

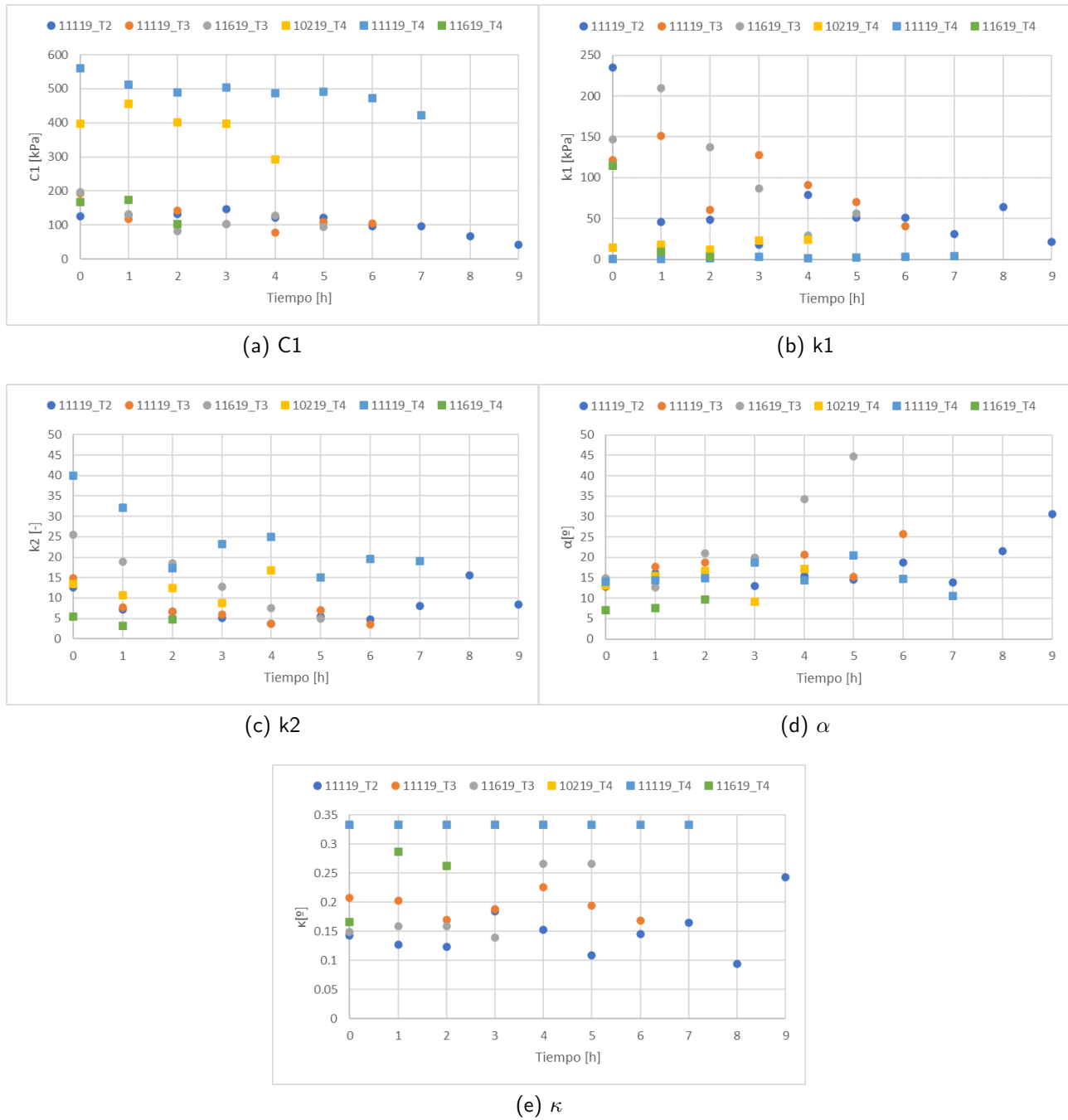


Figura 3.2: Evolución de los parámetros en el tiempo.

Para una mejor interpretación de estos resultados se ha realizado la curva media de los parámetros correspondientes a las muestras proximales y distales y una regresión lineal de las curvas obtenidas.

Debido a que no todos los ensayos de las muestras tienen una duración igual se ha realizado el promedio sobre el número máximo de horas que permitía mediar entre al menos dos muestras. Otra consideración que se tuvo en cuenta fue, en el caso de las muestras distales, excluir de estos promedios la muestra 11619\_T4 debido a la rapidez con la que rompió y a la elevada discrepancia que se observa entre los parámetros que obtiene en comparación con los que se dan en las otras dos muestras distales. A continuación, en la Fig. 3.3 se pueden ver los parámetros medios de las muestras proximales y en la Fig. 3.4 los correspondientes a las distales.

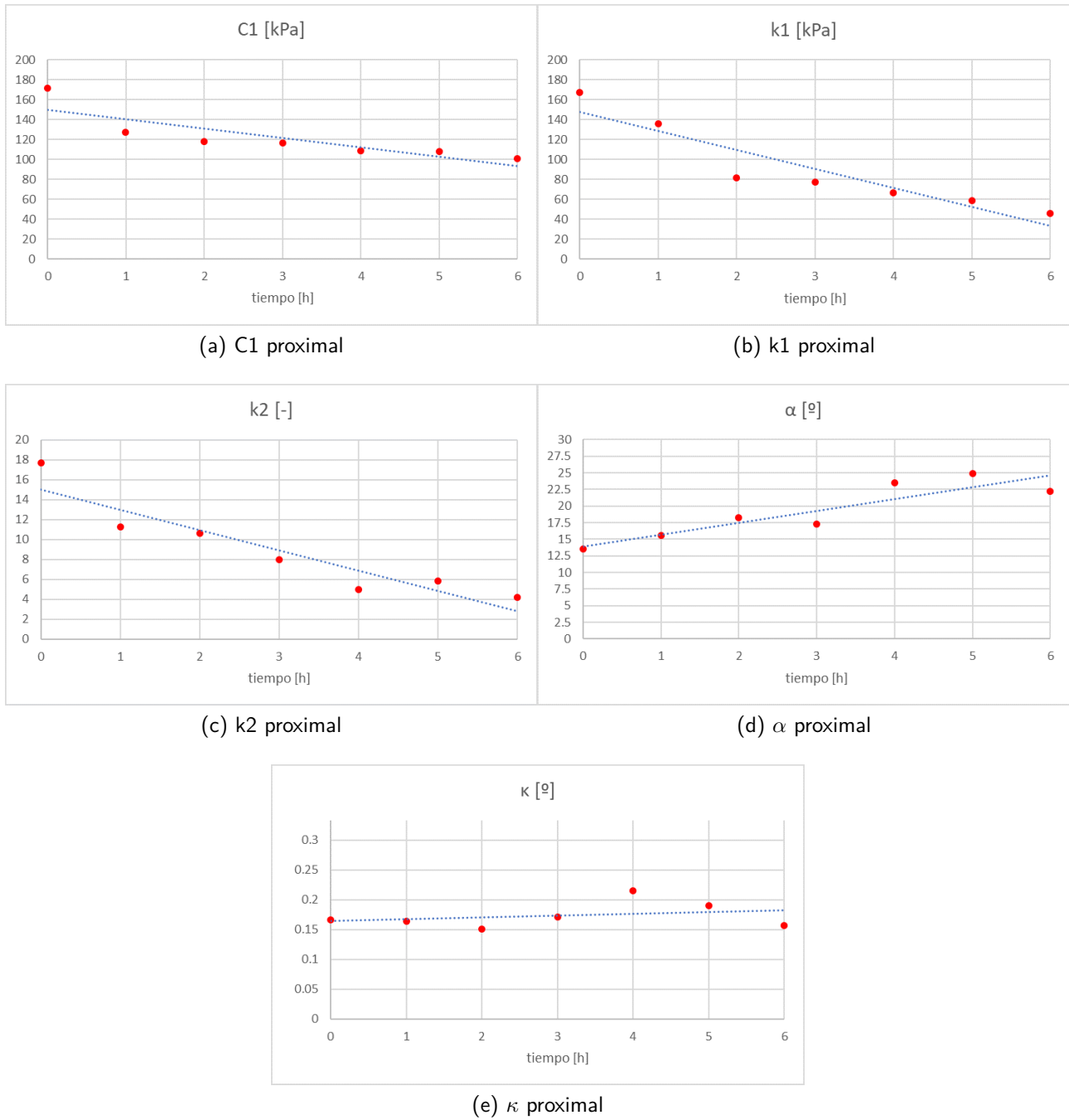


Figura 3.3: Evolución media de los parámetros en el tiempo. Muestras proximales.

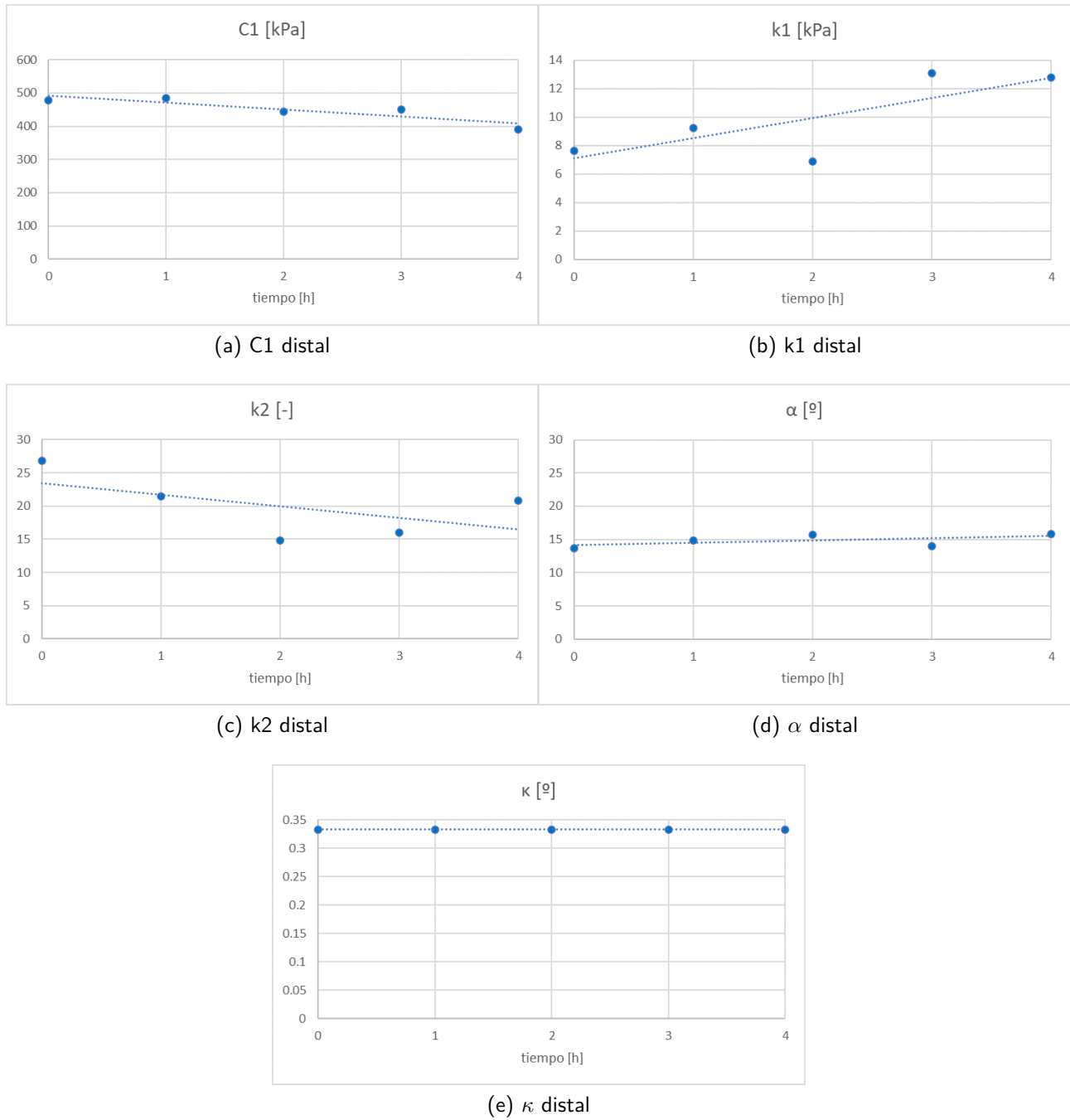


Figura 3.4: Evolución media de los parámetros en el tiempo. Muestras distales.

Puede verse como el parámetro  $C_1$  es mayor para el conjunto de muestras distales como consecuencia directa de su mayor rigidez por su mayor porcentaje de células musculares en su estructura interna. Tanto  $k_1$  como  $k_2$  son los parámetros que se asocian al colágeno y al comportamiento anisótropo de la pared del vaso junto con  $\alpha$  y  $\kappa$ , en este caso se ve como el conjunto proximal tiene un mayor valor medio de  $\alpha$  debido a su mayor isotropía. La Fig. 3.5 pretende aclarar como el aumento del parámetro  $\alpha$  aumenta el comportamiento isotrópico. Cuanto mayor es este ángulo y más se aproxima a formar 45° con la dirección  $z$  menos preferencia se da a la dirección  $\theta$  en el comportamiento del vaso, por tanto, aumenta la isotropía.

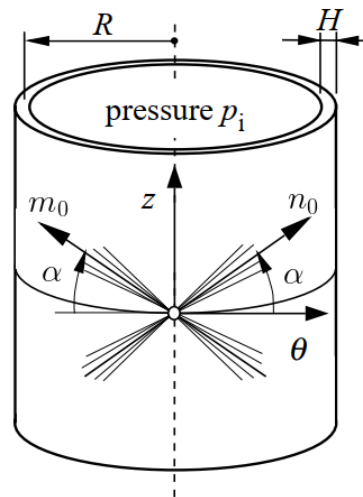


Figura 3.5: Representación del ángulo  $\alpha$  de las fibras de colágeno de la pared arterial. [Gasser *et al.*, 2006]

Atendiendo a la evolución temporal de los parámetros con el tiempo de exposición a la colagenasa se puede determinar que las propiedades mecánicas de la pared arterial disminuyen significativamente.

El parámetro  $C_1$  se reduce, pero no en gran medida ya que este parámetro hace referencia a la contribución isotropa y ésta es debida a la elastina, componente que en este ensayo no se degrada. Sin embargo, en los parámetros  $k_1$  y  $k_2$  sí que se observa una reducción más drástica, esto se debe a que son los parámetros que reflejan el comportamiento del colágeno. La evolución de  $k_2$  refleja la pérdida de la rigidez como resultado de que hay una menor cantidad de colágeno y éste se encuentra deteriorado, esto mismo justifica la disminución de  $k_1$ , solo que en este caso deja de ser exponencial y se vuelve más lineal. Respecto al parámetro  $\alpha$ , en ambos conjuntos de muestras se produce un incremento de este ángulo, pero en este caso es más pronunciado en las muestras proximales. Esto puede deberse a que los tramos arteriales proximales tienen un mayor carácter isotropo ya que el colágeno presente está más desorganizado.

Finalmente, se hizo una regresión lineal para obtener una ecuación que relacionase el valor de cada parámetro con el tiempo en colagenasa. En la siguiente tabla (Tabla 3.3) se pueden ver dichas ecuaciones junto con su coeficiente de determinación,  $R^2$ , que marca la bondad del ajuste de la ecuación al parámetro que relaciona.

|          | Proximal            |        | Distal              |        |
|----------|---------------------|--------|---------------------|--------|
|          | Ecuación            | $R^2$  | Ecuación            | $R^2$  |
| $C_1$    | $-9,288x + 149,3$   | 0,7241 | $-21,059x + 491,81$ | 0,7941 |
| $k_1$    | $-19,086x + 147,85$ | 0,8642 | $1,417x + 7,09$     | 0,6059 |
| $k_2$    | $-2,035x + 19,04$   | 0,8692 | $-1,723x + 23,45$   | 0,3294 |
| $\alpha$ | $1,779x + 13,96$    | 0,8101 | $0,343x + 14,14$    | 0,2924 |
| $\kappa$ | $0,003x + 0,164$    | 0,0930 | 0,3333              | 0,0000 |

Tabla 3.3: Ecuación y coeficiente de determinación para los distintos parámetros.

Cuanto más próximo es el coeficiente  $R^2$  a la unidad mayor es la relación entre el cambio en el parámetro y el tiempo en colagenasa y mejor es el ajuste. Esto indica que hay una variación

lineal con el tiempo de exposición significativa de los parámetros debida al efecto de la degradación enzimática de la collagenasa.





## Conclusiones

Este capítulo final tiene el objetivo de englobar las conclusiones que el ensayo y su posterior análisis ha permitido obtener.

En primer lugar, señalar que el principal objetivo perseguido se ha logrado: se ha podido producir un aneurisma y su posterior ruptura en la pared de muestras arteriales mediante el efecto de la degradación enzimática y el uso de ciclos de presión similares a los que se dan en un rango fisiológico. Si bien es cierto que en el aneurisma se degrada la elastina y no el colágeno, estos resultados permiten ser optimistas y pensar en el empleo de otras enzimas como la elastasa para el desarrollo de nuevos ensayos que se aproximen en mayor grado al proceso real.

En este proyecto se ha comenzado analizando la colagenasa (equivalente al proceso de degradación debido a metaloproteasas, MMP, que tiene lugar inicialmente durante el desarrollo del aneurisma) debido a su sencillez y menor coste comparado con el tratamiento con elastasa.

Además, los resultados expuestos aportan un mayor conocimiento sobre el papel que juega el colágeno en la pared arterial y su integridad. Esto puede servir como mejora para modelos de com-

portamiento frente a daño ya que se ve como su pérdida va afectando a la rigidez del vaso.

Tal y como se recoge en el capítulo de introducción, la ruptura de los aneurismas tiene lugar como consecuencia de pequeños desequilibrios que se dan entre síntesis y degradación de componentes otorgando a esta patología un cierto grado de aleatoriedad. En estos ensayos se han obtenido también diferentes zonas de ruptura, lo que da a entender que la propia heterogeneidad del vaso, es decir, el no encontrar en todos los puntos del vaso una misma composición, juega un papel importante en el tiempo y localización de la rotura.

Atendiendo al resultado de los distintos ensayos y del posterior tratamiento que se hizo de estos mismos mediante el ajuste numérico se extraen las siguientes conclusiones.

En el plano más experimental destaca lo siguiente:

- 1.- La heterogeneidad resulta clave para el resultado del ensayo ya que la rotura se produce en zonas y tiempos diferentes.
- 2.- En los ciclos de presión, el aumento del tiempo de degradación reduce el ancho del ciclo. Se observa que la curva pasa a tener un camino de carga y otro de descarga más semejante al comportamiento de la elastina. Se produce una pérdida de viscolasticidad por la proteólisis del colágeno. (Fig. 4.1).
- 3.- Para un mayor tiempo de degradación se obtiene que la carga que es necesaria ejercer en la dirección  $z$  para mantener fija la posición de  $\lambda_{iv}$  se reduce. (Fig. 4.2).
- 4.- A iguales niveles de presión, cuanto mayor es el tiempo de degradación mayor es la extensión  $\lambda_\theta$  que se alcanza. (Fig. 4.3).

Desde el punto de vista del ajuste numérico:

- 1.- El parámetro  $C_1$  y que se refiere a la contribución isótropa de la elastina disminuye, pero en menor medida debido a que en el ensayo la elastina permanece intacta.
- 2.- Los parámetros  $k_1$  y  $k_2$  que son los que reflejan el comportamiento del colágeno son los que más disminuyen al ser este componente el que se deteriora por la acción de la colagenasa. Se pierde rigidez por el estado dañado del colágeno que compone el vaso, lo que lo hace más lineal y similar al de la elastina. Esta pérdida de rigidez se observa también en Trabelsi *et al.* [2020].
- 3.- Se aprecia un aumento significativo en los valores del ángulo  $\alpha$ , especialmente para el conjunto de muestras proximales, que implica un mayor grado de isotropía. Este efecto se observa en el comportamiento que tienen muestras reales de aneurisma al ensayarse. El hecho de que aumente la isotropía implica que se reduce funcionalidad mecánica en el vaso ya que la disposición original de las fibras que posee y que le aporta unas características de resistencia determinadas se pierde.
- 4.- El valor del parámetro  $\kappa$  que indica la dispersión de las fibras dentro del ángulo  $\alpha$  que las caracteriza tiende a aumentar, lo cual favorecería el aumento de la isotropía. A pesar de ello, en estos resultados no se da una evidencia suficiente como para afirmar que a mayor tiempo de exposición en colagenasa mayor es este parámetro.
- 5.- En base a lo expuesto en la Tabla 3.3 se puede afirmar que el cambio más significativo en los parámetros tiene lugar en el conjunto de muestras proximales. Una justificación para este comportamiento se encuentra en la propia estructura de estos vasos. Debido a que tienen un

menor porcentaje de colágeno formando su estructura parece lógico pensar que, frente a la acción de una enzima que degrada dicho componente, su estructura se va a debilitar en mayor medida que la de las muestras distales que tienen más colágeno formando parte de ellas y, por tanto, su estructura mantendrá más tiempo su integridad.

## 4.1. Líneas futuras

Como trabajo futuro basado en el que se muestra en esta memoria cabe destacar tres ideas principales cuya finalidad es la mejora del ensayo y un mayor grado de aproximación al proceso real.

- 1.- Emplear elastasa como enzima de degradación en lugar de la collagenasa con el fin de asemejar más el ensayo al proceso real de formación del aneurisma. Esto conseguiría degradar la elastina y mantener intacto el colágeno.
- 2.- Aumentar el número de muestras ensayadas para conseguir una mayor evidencia y solidez en los resultados.
- 3.- Combinar los resultados obtenidos con modelos de procesos adaptativos y degenerativos como puede ser la regla de las mezclas. Este modelo se basa en que la suma de componentes del vaso es igual a la unidad y en que la pérdida de uno de ellos implica el aumento de otro. De esta forma se puede simular la pérdida de elastina y la formación de colágeno desorganizado.



# Anexo

El presente anexo recoge el resto de gráficas que no se muestran en la memoria y que se han obtenido de los ensayos y las tablas con los parámetros que proporciona el ajuste numérico para cada muestra y hora. El contenido del mismo es el siguiente:

- Ciclos de presión frente a carga
- Curvas de carga frente a presión
- Curvas de presión frente a  $\lambda_\theta$
- Pérdida de rigidez
- Tablas de los parámetros del ajuste

## Ciclos de presión frente a carga

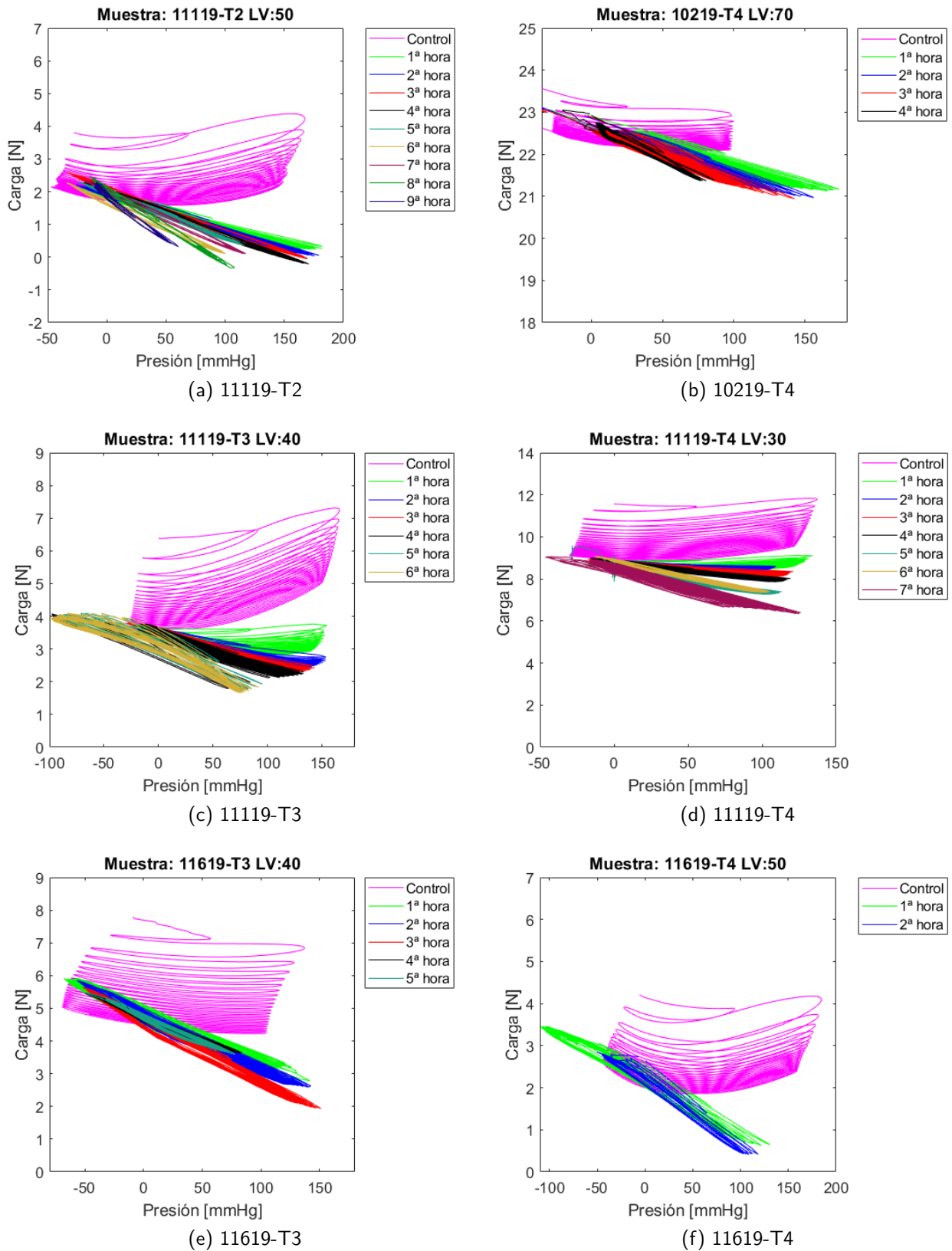


Figura 4.1: Ciclos de presión del ensayo.

## Curvas de carga frente presión

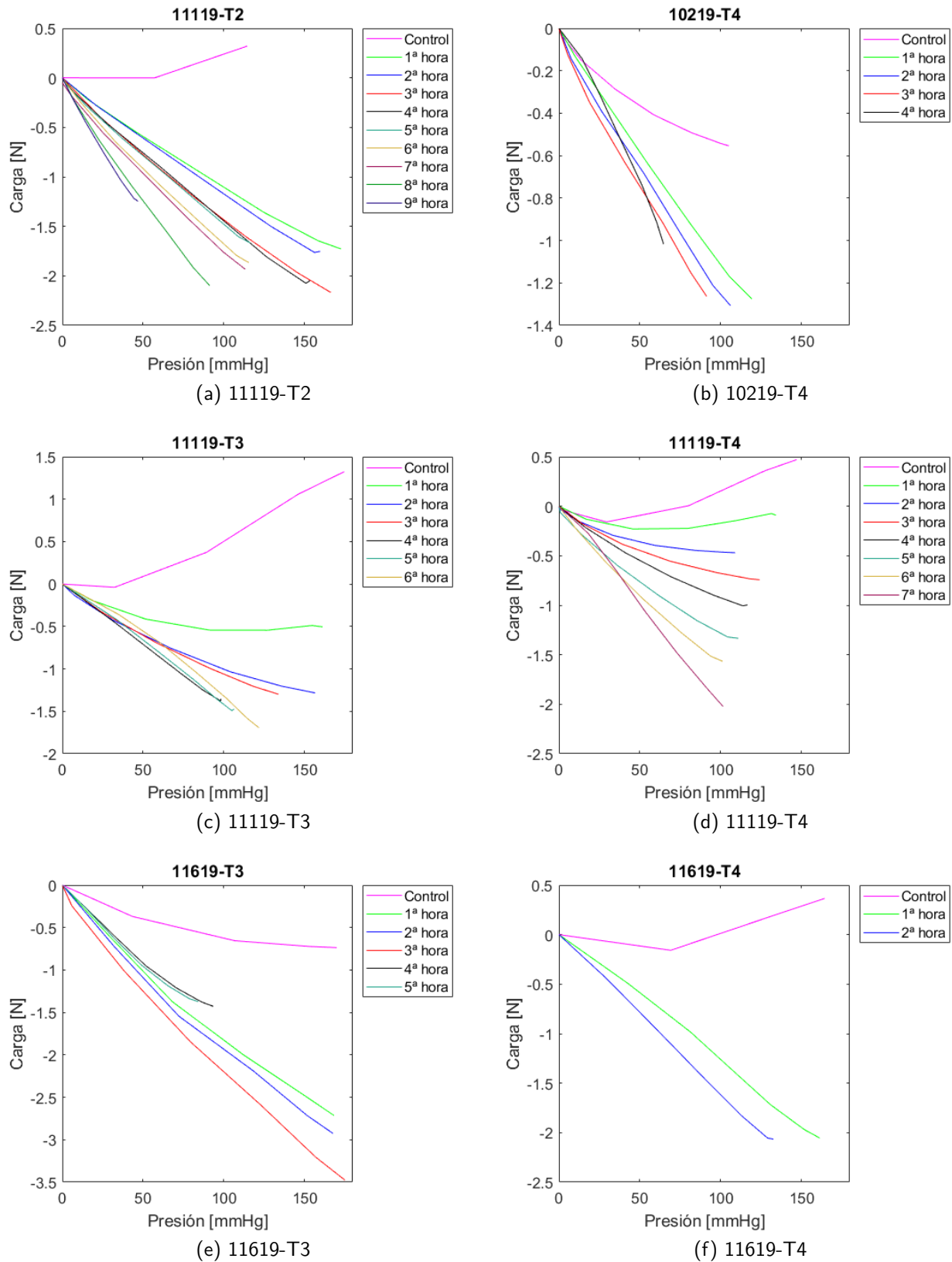


Figura 4.2: Curvas de carga frente presión.

## Curvas de presión frente $\lambda_\theta$

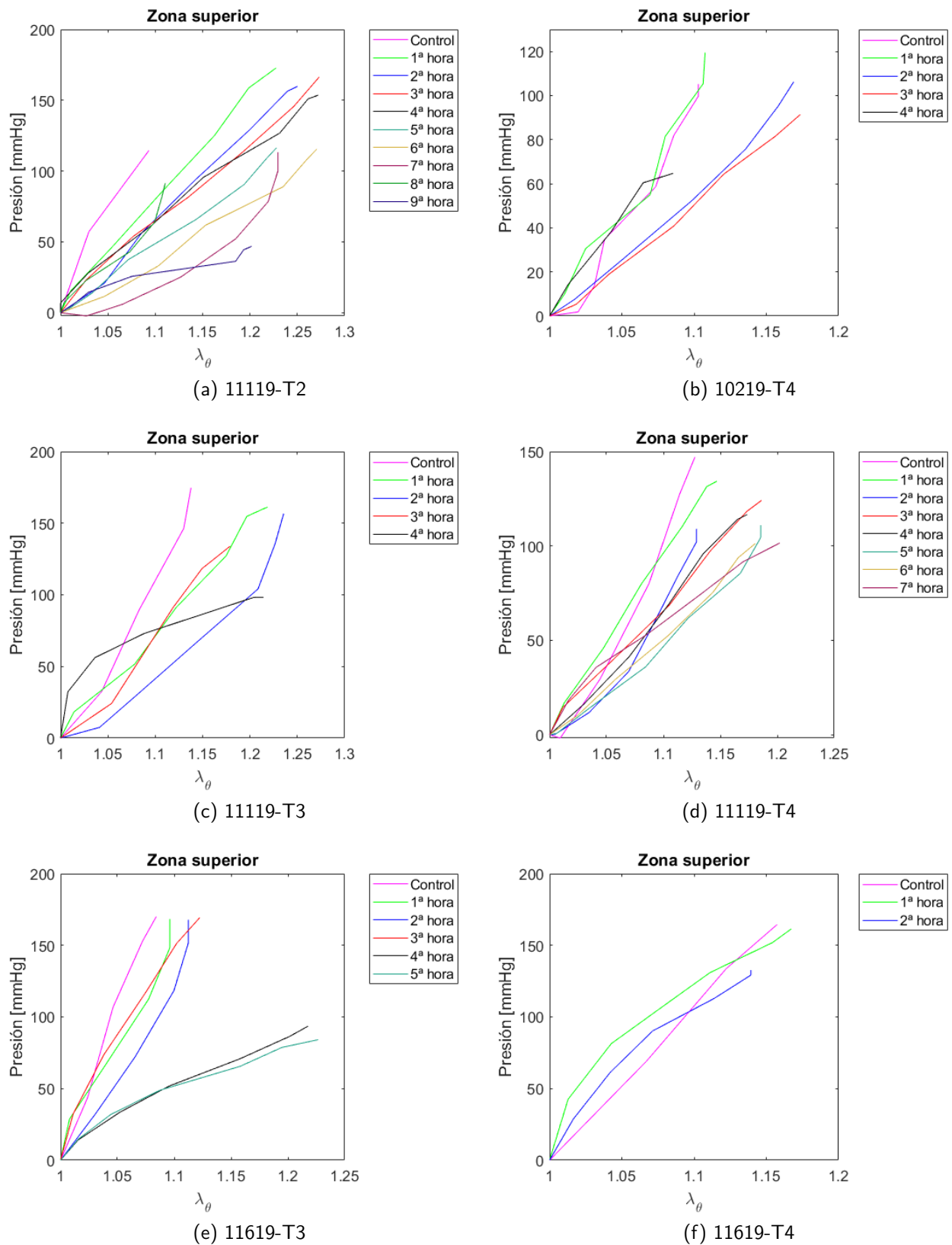


Figura 4.3: Curvas de presión frente  $\lambda_\theta$  zona superior.



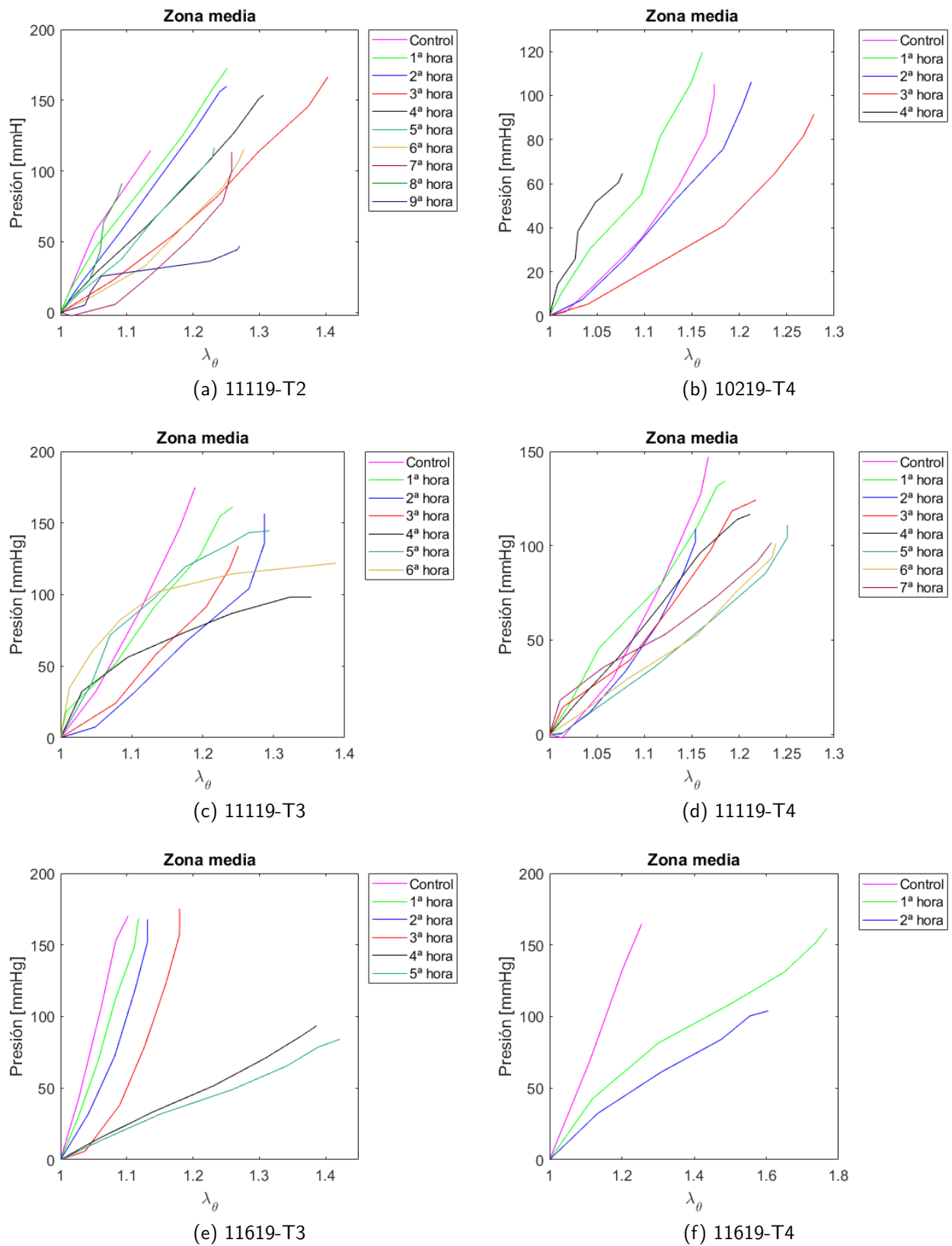
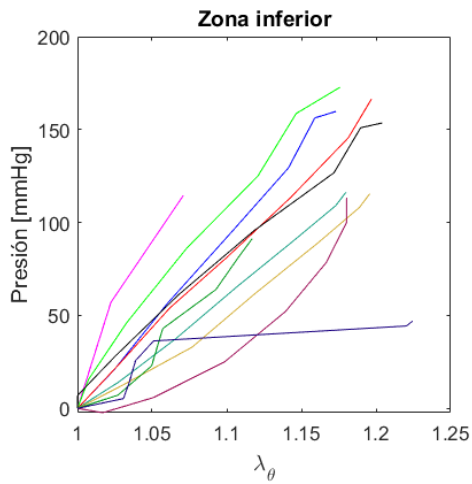
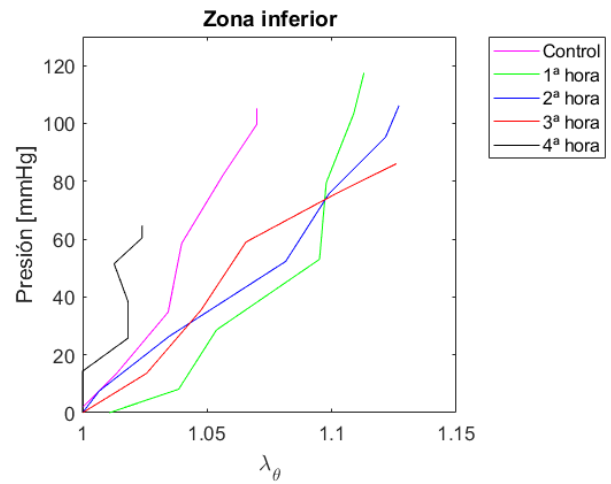


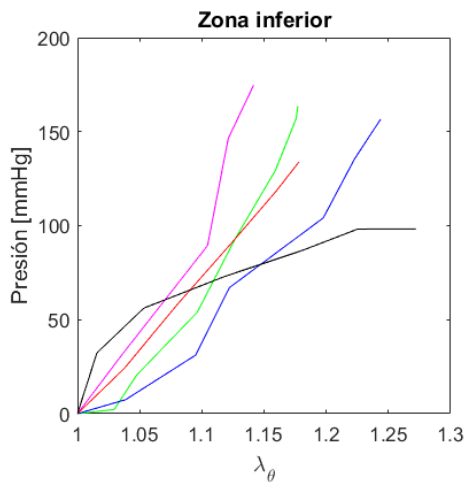
Figura 4.4: Curvas de presión frente  $\lambda_\theta$  zona media.



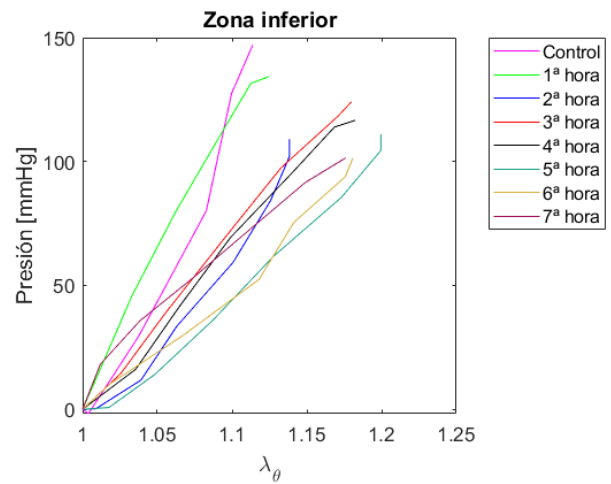
(a) 11119-T2



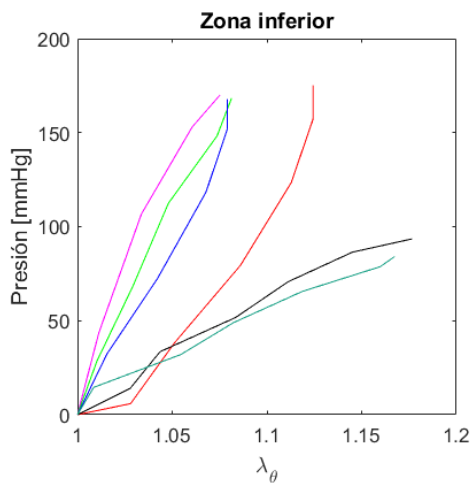
(b) 10219-T4



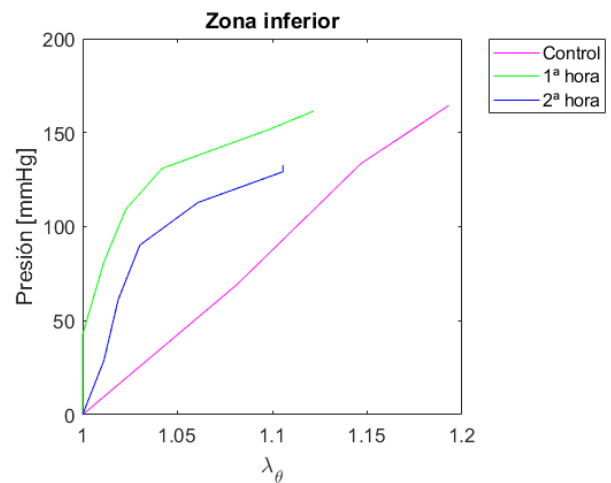
(c) 11119-T3



(d) 11119-T4



(e) 11619-T3



(f) 11619-T4

Figura 4.5: Curvas de presión frente  $\lambda_\theta$  zona inferior.

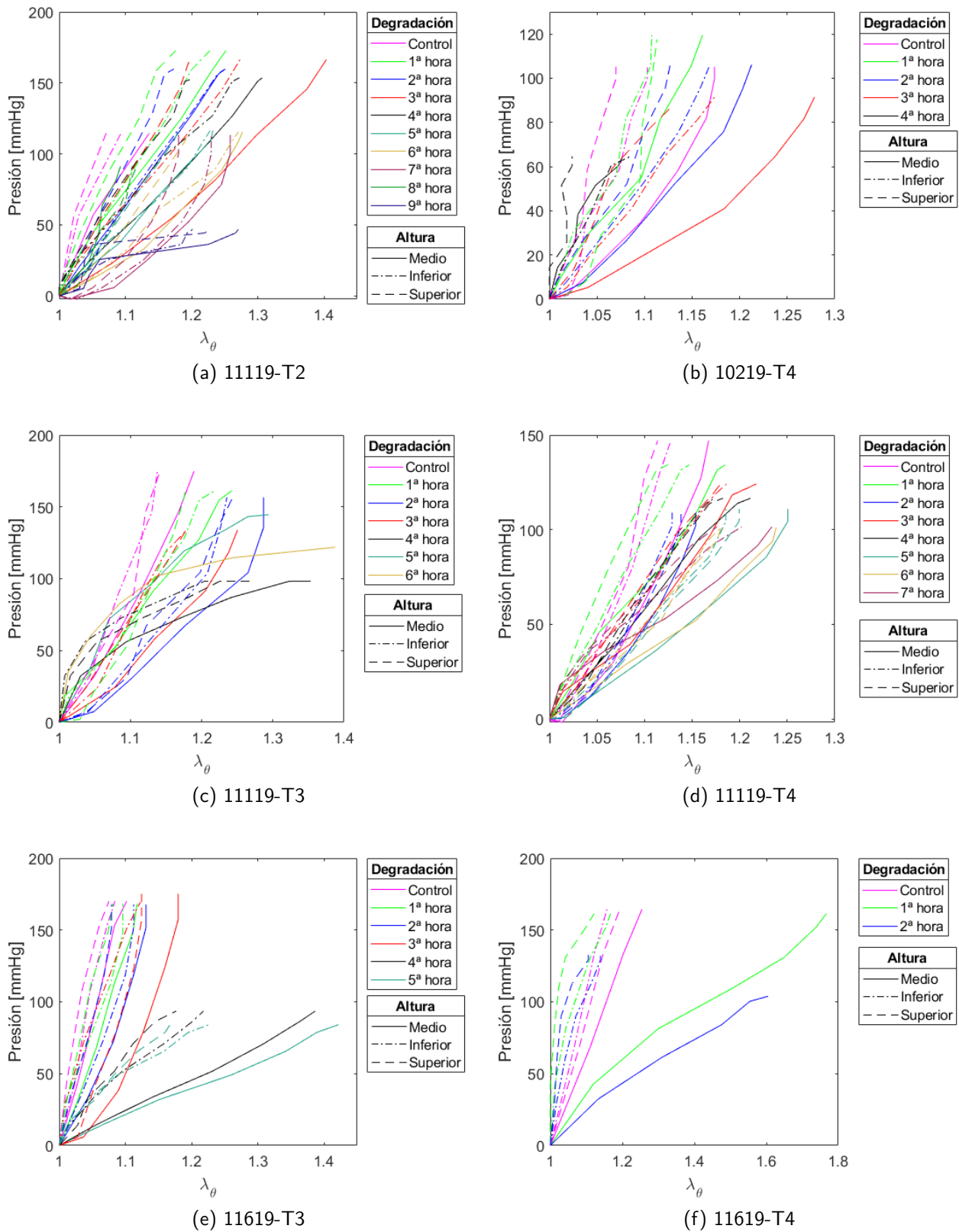


Figura 4.6: Curvas de presión frente  $\lambda_\theta$  comparadas.

## Pérdida de rigidez

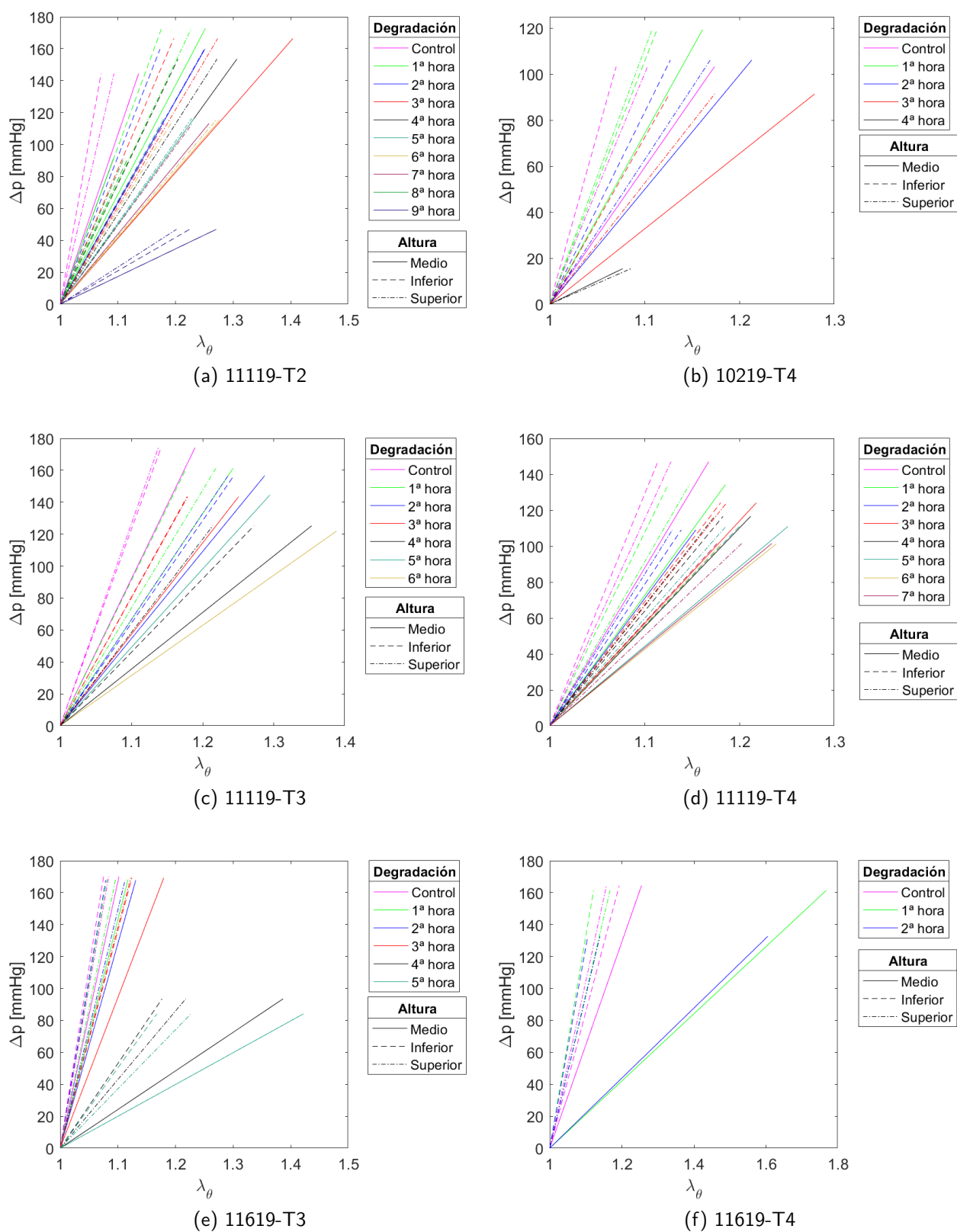


Figura 4.7: Pérdida de rigidez de la pared arterial.

## Parámetros del ajuste

### Proximal

| <b>11119_T2</b> | $C_1$      | $k_1$      | $k_2$     | $\alpha$  | $\kappa$ |
|-----------------|------------|------------|-----------|-----------|----------|
| 0               | 125.916333 | 234.873694 | 12.667495 | 12.856809 | 0.143136 |
| 1               | 129.88839  | 45.904624  | 7.196815  | 16.172105 | 0.127414 |
| 2               | 131.057609 | 48.360428  | 6.676636  | 15.008943 | 0.124147 |
| 3               | 145.799909 | 17.900733  | 5.189959  | 12.912821 | 0.184471 |
| 4               | 121.194143 | 79.166874  | 3.711401  | 15.510711 | 0.153341 |
| 5               | 120.79601  | 51.28883   | 5.491254  | 14.579336 | 0.108671 |
| 6               | 95.875494  | 50.807545  | 4.724878  | 18.715798 | 0.145052 |
| 7               | 96.921089  | 30.629597  | 7.989392  | 13.804134 | 0.164688 |
| 8               | 66.380378  | 64.079867  | 15.502068 | 21.599065 | 0.094824 |
| 9               | 42.780484  | 21.525681  | 8.336886  | 30.510977 | 0.242957 |

Tabla 4.1: Parámetros muestra 11119\_T2.

| <b>11119_T3</b> | $C_1$      | $k_1$      | $k_2$     | $\alpha$  | $\kappa$ |
|-----------------|------------|------------|-----------|-----------|----------|
| 0               | 192.159974 | 121.209713 | 14.804446 | 12.928253 | 0.207878 |
| 1               | 118.024201 | 151.657923 | 7.645252  | 17.692363 | 0.203326 |
| 2               | 141.573826 | 60.631698  | 6.594458  | 18.656398 | 0.170178 |
| 3               | 102.20127  | 127.47153  | 5.981093  | 18.835275 | 0.188199 |
| 4               | 77.33993   | 91.212917  | 3.787012  | 20.737887 | 0.225641 |
| 5               | 108.760256 | 69.848567  | 7.08807   | 15.288517 | 0.194873 |
| 6               | 105.014005 | 40.622004  | 3.618744  | 25.648745 | 0.168397 |

Tabla 4.2: Parámetros muestra 11119\_T3.

| <b>11619_T3</b> | $C_1$      | $k_1$      | $k_2$     | $\alpha$  | $\kappa$ |
|-----------------|------------|------------|-----------|-----------|----------|
| 0               | 195.802102 | 146.644357 | 25.560666 | 14.865261 | 0.149278 |
| 1               | 132.768749 | 209.897136 | 18.885868 | 12.704918 | 0.15926  |
| 2               | 82.082267  | 136.961398 | 18.60604  | 21.067426 | 0.158366 |
| 3               | 101.884613 | 86.534378  | 12.823787 | 19.972258 | 0.139268 |
| 4               | 127.291764 | 29.626447  | 7.466574  | 34.179167 | 0.265963 |
| 5               | 94.277254  | 56.05104   | 4.911095  | 44.71185  | 0.266874 |

Tabla 4.3: Parámetros muestra 11619\_T3.

**Distal**

| <b>10219_T4</b> | $C_1$      | $k_1$     | $k_2$     | $\alpha$  | $\kappa$ |
|-----------------|------------|-----------|-----------|-----------|----------|
| 0               | 396.9924   | 14.620858 | 13.558276 | 13.239836 | 0.333333 |
| 1               | 455.327529 | 18.018382 | 10.721915 | 15.437394 | 0.333333 |
| 2               | 400.805881 | 12.046337 | 12.360961 | 16.670656 | 0.333333 |
| 3               | 396.813701 | 22.768936 | 8.772209  | 9.217684  | 0.333333 |
| 4               | 293.055409 | 24.427112 | 16.721955 | 17.255493 | 0.333333 |

Tabla 4.4: Parámetros muestra 10219\_T4.

| <b>11119_T4</b> | $C_1$      | $k_1$    | $k_2$     | $\alpha$  | $\kappa$ |
|-----------------|------------|----------|-----------|-----------|----------|
| 0               | 561.15418  | 0.624434 | 40.043771 | 14.105692 | 0.333333 |
| 1               | 512.013207 | 0.448808 | 32.101033 | 14.336907 | 0.333333 |
| 2               | 488.568138 | 1.74743  | 17.357308 | 14.835149 | 0.333333 |
| 3               | 504.891516 | 3.426184 | 23.280399 | 18.678617 | 0.333333 |
| 4               | 487.320483 | 1.124611 | 24.938344 | 14.461124 | 0.333333 |
| 5               | 491.625516 | 2.081626 | 15.103593 | 20.45558  | 0.333333 |
| 6               | 473.003519 | 3.078699 | 19.589453 | 14.730198 | 0.333332 |
| 7               | 422.99833  | 3.896123 | 19.044905 | 10.633723 | 0.333333 |

Tabla 4.5: Parámetros muestra 11119\_T4.

| <b>11619_T4</b> | $C_1$      | $k_1$      | $k_2$    | $\alpha$ | $\kappa$ |
|-----------------|------------|------------|----------|----------|----------|
| 0               | 167.910688 | 114.968504 | 5.497624 | 7.111437 | 0.166027 |
| 1               | 173.385736 | 9.219888   | 3.130994 | 7.505691 | 0.28662  |
| 2               | 101.96537  | 3.115584   | 4.769156 | 9.648761 | 0.262217 |

Tabla 4.6: Parámetros muestra 11619\_T4.

# Referencias

- BRUCE M. KOEPPEN, B. A. S. (2017). *Berne & Levy Physiology*. Elsevier LTD, Oxford.
- FRAGA-SILVA, R. A. & TRACHET, B. (2015). Editorial: Novel insights on aortic aneurysm. *Current pharmaceutical design* **21**, 3993–3995.
- GASSER, T., AUER, M., LABRUTO, F., SWEDENBORG, J. & ROY, J. (2010). Biomechanical rupture risk assessment of abdominal aortic aneurysms: Model complexity versus predictability of finite element simulations. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery* **40**(2), 176–185.
- GASSER, T. C., OGDEN, R. W. & HOLZAPFEL, G. A. (2006). Hyperelastic modelling of arterial layers with distributed collagen fibre orientations. *Journal of The Royal Society Interface* **3**(6), 15–35.
- GHASEMI, M., NOLAN, D. R. & LALLY, C. (2018). An investigation into the role of different constituents in damage accumulation in arterial tissue and constitutive model development. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology* **17**(6), 1757–1769.
- GUNDIAH, N., BABU, A. R. & PRUITT, L. A. (2013). Effects of elastase and collagenase on the nonlinearity and anisotropy of porcine aorta. *Physiological Measurement* **34**(12), 1657–1673.

- HOLZAPFEL, G. A., GASSER, T. C. & OGDEN, R. W. (2000). A new constitutive framework for arterial wall mechanics and a comparative study of material models. *Journal of Elasticity* **61**(1/3), 1–48.
- HUMPHREY, J. & HOLZAPFEL, G. (2012). Mechanics, mechanobiology, and modeling of human abdominal aorta and aneurysms. *Journal of Biomechanics* **45**(5), 805–814.
- HUMPHREY, J. D. (2002). *Cardiovascular Solid Mechanics*. Springer New York.
- LELOVAS, P. P., KOSTOMITSOPOULOS, N. G. & XANTHOS, T. T. (2014). A comparative anatomic and physiologic overview of the porcine heart. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science : JAALAS* **53**, 432–438.
- LILLY, L. S. (2016). *Cardiologia. Bases fisiopatológicas de las cardiopatías*. Lippincott Williams & Wilkins.
- MATHUR, A., MOHAN, V., AMETA, D., GAURAV, B. & HARANAHALLI, P. (2016). Aortic aneurysm. *Journal of Translational Internal Medicine* **4**(1), 35–41.
- SHERIFOVA, S. & HOLZAPFEL, G. A. (2019). Biomechanics of aortic wall failure with a focus on dissection and aneurysm: A review. *Acta Biomaterialia* **99**, 1–17.
- TRABELSI, O., DUMAS, V., BREYSSE, E., LAROCHE, N. & AVRIL, S. (2020). In vitro histomechanical effects of enzymatic degradation in carotid arteries during inflation tests with pulsatile loading. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* **103**, 103550.
- VALDEZ-JASSO, D., BIA, D., ZÓCALO, Y., ARMENTANO, R. L., HAIDER, M. A. & OLUFSEN, M. S. (2011). Linear and nonlinear viscoelastic modeling of aorta and carotid pressure–area dynamics under in vivo and ex vivo conditions. *Annals of Biomedical Engineering* **39**(5), 1438–1456.
- VAN DE POL, V., KURAKULA, K., DERUITER, M. C. & GOUMANS, M.-J. (2017). Thoracic aortic aneurysm development in patients with bicuspid aortic valve: What is the role of endothelial cells? *Frontiers in Physiology* **8**(938).